

BEST AVAILABLE COPY

(57)要約

タンパク質等の生体高分子の結晶化に有用なシンプルかつ安価な結晶成長用装置が提供される。結晶成長用装置(20)は、結晶成長のために用いられるべき液体を保持するための第1の液体貯留部(23a)および(23b)と、第1の液体貯留部(23a)および(23b)から液体を他の場所に移動させるための流路(26a)および(26b)と、流路(26a)および(26b)によって移動させられる液体を受入れるための第2の液体貯留部(24)とを備える。第1の液体貯留部(23a)および(23b)はガラス等の汎用材料からなる基板(21)上に形成される。第2の液体貯留部(24)は、ドーピングされたシリコン基板(22)上に形成される。結晶成長は、所定の電氣的状態を有するシリコン基板(22)の表面上で起こる。

PCTに基づいて公開される国際出願のパフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	ES スペイン	LI リヒテンシュタイン	SG シンガポール
AL アルバニア	FI フィンランド	LK スリ・ランカ	SI スロヴェニア
AM アルメニア	FR フランス	LR リベリア	SK スロヴァキア
AT オーストリア	GA ガボン	LS レント	SL シエラ・レオネ
AU オーストラリア	GB 英国	LT リトアニア	SN セネガル
AZ アゼルバイジャン	GD グレナダ	LU ルクセンブルグ	SZ スワジランド
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE グルジア	LV ラトヴィア	TD チャード
BB バルバドス	GH ガーナ	MC モナコ	TG トーゴ
BE ベルギー	GM ガンビア	MD モルドヴァ	TJ タジキスタン
BF ブルキナ・ファソ	GN ギニア	MG マダガスカル	TM トルクメニスタン
BG ブルガリア	GW ギニア・ビサウ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR トルコ
BJ ベナン	GR ギリシャ	共和国	TT トリニダード・トバゴ
BR ブラジル	HR クロアチア	マリ	UA ウクライナ
BY ベラルーシ	HU ハンガリー	ML モンゴル	UG ウガンダ
CA カナダ	ID インドネシア	MN モンゴリア	US 米国
CF 中央アフリカ	IE アイルランド	MR モリタニア	UZ ウズベキスタン
CG コンゴ	IL イスラエル	MW マラウイ	VN ヴェトナム
CH スイス	IN インド	MX メキシコ	YU ユーゴスラビア
CI コートジボアール	IS アイスランド	NE ニジェール	ZA 南アフリカ共和国
CM カメルーン	IT イタリア	NL オランダ	ZW ジンバブエ
CN 中国	JP 日本	NO ノールウェー	
CU キューバ	KE ケニア	NZ ニュー・ジーランド	
CY キプロス	KG キルギスタン	PL ポーランド	
CZ チェッコ	KP 北朝鮮	PT ポルトガル	
DE ドイツ	KR 韓国	RO ルーマニア	
DK デンマーク	KZ カザフスタン	RU ロシア	
EE エストニア	LC セントルシア	SD スーダン	
		SE スウェーデン	

## 明細書

## 結晶成長用装置

## 5 技術分野

本発明は、高分子化合物の結晶化を行なうための装置に関し、特に、価電子が制御された半導体基板等とガラスなどの他の材料からなる基板等とを組合せて、タンパク質、核酸などの種々の生体高分子の結晶化を行なうための装置を提供する技術に関する。

10

## 背景技術

タンパク質をはじめとする各種生体高分子およびそれらの複合体における特異的な性質および機能を理解する上で、それらの詳細な立体構造は不可欠な情報となっている。たとえば、基礎生化学的な観点からは、タンパク質等の3次元構造の情報が、酵素やホルモン等による生化学系での機能発現のメカニズムを理解する上での基礎となる。また、産業界のうち特に薬学、遺伝子工学、化学工学の分野においては、3次元構造は、ドラッグデザイン、プロテインエンジニアリング、生化学的合成等を進める上で合理的な分子設計に欠かせない情報を提供する。

15

このような生体高分子の原子レベルでの3次元立体構造を得る方法としては、現在のところX線結晶構造解析が最も有力かつ精度の高い手段である。近年のX線光源・回折装置のハードウェア上の改良による測定時間の短縮、測定精度の向上に加え、コンピュータの計算処理速度の飛躍的な向上により、解析スピードが大幅に上昇してきている。今後も、この手法を主流として3次元構造が明らかにされていくものと思われる。

20

一方、X線結晶構造解析により生体高分子の3次元構造を決定するためには、目的とする物質を抽出・精製後、結晶化することが必須となる。しかし、現在のところ、どの物質に対しても適用すれば必ず結晶化できるといった手法および装置がないため、勘と経験に頼ったトライアンドエラーを繰返しながら結晶化を進めているのが実情である。生体高分子の結晶を得るためには、非常に多くの実験

25

条件による探索が必要であり、結晶成長のプロセスがX線結晶解析の分野での最も大きなボトルネックとなっている。

タンパク質等の生体高分子の結晶化は、通常、無機塩等の低分子量化合物の場合と同様に、高分子を含む水溶液または非水溶液から溶媒を奪う処理を施すことにより、過飽和状態にして、その溶解度を低下させ、結晶を成長させるのが基本となっている。このための代表的な方法として、バッチ法、透析法、拡散法などがあり、試料の種類、量、性質等によってこれらが使い分けられている。

バッチ法は、生体高分子を含む溶液に、水和水を奪う沈殿剤を直接添加して、生体高分子の溶解度を低下させ、固相へ変化させる方法である。この方法では、たとえば固体の硫酸アンモニウム（硫安）がよく使用される。この方法は、溶液試料を大量に必要とし、塩濃度、pHの微妙な調整が困難であること、さらに操作に熟練を要し、再現性が低いといった欠点を有する。透析法は、バッチ法の欠点を改善した方法で、透析チューブ等の内部に生体高分子を含む溶液を密封し、透析チューブ外液（たとえば緩衝溶液）のpH等を連続的に変化させ結晶化を行なう方法である。この方法によれば、内外液の塩濃度、pH差を任意の速度で調節可能であるため、結晶化の条件を見出しやすい。拡散法のうち、たとえば気液相間拡散法は、図39に示すように、試料台393aおよび393b上に、試料溶液の液滴397を載せ、蓋392によってそれぞれ密閉された容器391aおよび391b内にこの液滴と沈殿剤溶液394aおよび394bをそれぞれ保持することにより、液滴および沈殿剤溶液の揮発成分の蒸発によって穏やかに平衡を成立させる手法である。図に示すように、複数の容器内で異なる沈殿剤を用いてより好ましい条件を探ることができる。また、液相間拡散法は、図40(a)および40(b)に示すように、基板401上に、目的とする物質を含有する母液の液滴407と沈殿剤の液滴404とを約5mmほど隔てて置き、両者の間に針等の先によって細い液の流れ406を形成する。この液の流れ406を介して相互拡散が行なわれ、結晶化が促進される。これらの拡散法は、バッチ法と比較して溶液の量が非常に少なくて済むといった利点を有している。

しかし、タンパク質等の生体高分子の結晶化には、前述したように種々の問題点があるのが実情である。

まず、多くの生体高分子が、結晶性が良好でなく、大型の単結晶を形成しにくい。これは、生体高分子が一般的に分子量が大きいために、重力の影響を受けやすく、溶液内で対流を引き起こすことが原因であると考えられている（たとえば F. Rosenberger, J. Cryst. Growth, 76, 618 (1986)）。すなわち、生体高分子の微小な結晶核が自重で沈降し、これによって分子や結晶核周辺での溶液の対流が引き起こされる。さらに、生成した結晶表面で、分子の濃度が低下するために局所的な溶液の対流が発生する。以上のようにして発生した溶液内の対流によって、生成する結晶は溶液内で移動する。特に、結晶周辺部の溶液の対流によって、結晶周辺の分子供給層は著しく減少する。このため、結晶成長速度が低下し、結晶面における成長の異方性等が発生し、結晶化が妨げられる。

また、生体高分子結晶には、他の物質の結晶とは異なり、多量の溶媒（主として母液中の水）が含まれる（ $\geq 50$  体積%）。この溶媒が、無秩序であり、かつ結晶中で分子間の空隙となっている部分を容易に動き得る。また、分子が巨大であるにもかかわらず、結晶中で広範囲な分子間のパッキングコンタクトがほとんどなく、僅かな分子-分子間ファンデルワールス力による結合、または水分子を介した水素結合によるコンタクトしか存在していない。このような状態も結晶化を妨げている要因である。

さらに、生体高分子は結晶化に用いられる条件に非常に敏感である。生体高分子は、個々の分子表面間の相互作用により溶媒中で安定化されている一方、分子表面の電荷分布、特にアミノ酸の分子表面近傍でのコンフォメーション等は、環境すなわち溶液の pH、イオン強度、温度、緩衝溶液の種類、誘電率等により大きく変化する。したがって、結晶化プロセスは、複雑な種々の条件の絡み合ったマルチパラメータプロセスとなり、どの物質に対しても適用できる統一的な手法が確立できていない。またタンパク質については、水溶性タンパク質に比べ、生化学的に非常に重要であるにもかかわらず、疎水性タンパク質の結晶化は、非常に困難であり、その結晶化を行ないさらには高分解能の解析に成功した例はごく僅かである。

また、得られる生体高分子は微量であることが多い。たとえば酵素等のタンパク質は、一般に細胞等から抽出され、精製されるが、その含有量が少ないため、

最終的に結晶化のため得られる試料は非常に少ない場合が多い。結晶化を行なう際には、溶液における生体高分子の濃度は50 mg/ml程度必要であると言われている。したがって、できるだけ少ない量の溶液について種々の条件で結晶化実験を繰返すこと（スクリーニング）を行なう必要がある。

- 5      上述したように拡散法では試料の量が少なく済むが、良質の結晶を得るためには沈殿剤の塩濃度、pHなどを広い範囲にわたって変えて結晶化の最適条件を見出していかなければならない。この場合、条件はトライアル・アンド・エラーによってしか見出すことができない。さらに、試料の液滴を形成するガラス基板等は、不要な結晶核の大量発生をひき起こしやすい。これを抑制するため、表面  
10      研磨および撥水处理等の表面処理を予め施す必要がある。

- 以上のように、タンパク質をはじめとする生体高分子およびこれらの複合体の結晶化は、学術および産業上の重要なプロセスであるにもかかわらず、これまで試行錯誤を繰返しながらか進められてきた。結晶化のプロセスは、X線結晶構造解析の最大の障壁となっている。したがって、今後結晶化の基本原則を理解して、  
15      どの分子に対しても適用し得る結晶化技術を開発する必要がある。

- 特開平4-182398号公報は、改良された拡散法を開示する。この方法では、生体高分子溶液と結晶化剤とを界面接触させた後、結晶化剤が生体高分子溶液にある程度拡散した段階で、生体高分子溶液を含む容器内に仕切りを設けて容器をいくつか分割し、得られたいくつかの区画の中から結晶化のためにより好ましい条件を有する区画を選択しようとしている。特開平6-321700号公報は、結晶化溶液内の対流を防止する方法を開示する。この方法では、結晶化すべき物質を溶解した緩衝液に、アクリルアミド、アガロース等を添加し、結晶化すべき物質をゲル中に固定化する。冷却、加熱、またはゲル中に含ませた沈殿剤の拡散等により、目的とする物質をゲル中において過飽和状態にし、結晶化させる。  
20      25      する。

    以上示してきた従来技術に対し、特開平8-294601号公報に開示されるとおり、本発明者は、結晶化のためのユニークな技術を開発してきた。本発明者の開発した方法によれば、価電子の制御に応じて電氣的狀態の制御された固体素子の表面、たとえば所定の種類および濃度で不純物が添加されたシリコン基板の

表面において、タンパク質等の生体高分子の結晶化を制御することができる。

#### 発明の開示

5 本発明の目的は、上述したように多様な特性を有するためにどの物質に対しても適用できる手法がなく、試行錯誤を繰返しながらか進められてきた従来の結晶化プロセスの欠点を、技術的に解消することである。

具体的には、本発明の目的は、上述した本発明者による結晶化の技術を応用して、簡単かつ便利に結晶化を行なうことのできる装置を提供することである。

10 本発明のさらなる目的は、種々の生体高分子および生体高分子から主として構成される生体組織の結晶化において、重力の影響による溶液内対流を低減し、核形成を制御できる装置を提供することである。

本発明のさらなる目的は、微結晶の大量生成を抑制または制御し、X線構造解析を可能にし得る大型の結晶を成長させることのできる装置を提供することである。

15 本発明のさらなる目的は、少量の生体高分子溶液中で結晶の成長が可能な装置を提供することにある。

本発明に従って、溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させるための装置が提供される。この装置は、結晶成長のために用いられるべき液体を保持するための第1の液体貯留部と、第1の液体貯留部から液体を他の場所に移動させるための流路と、流路によって移動させられる液体を受入れるための第2の液体貯留部とを備える。第1の液体貯留部、または第1の液体貯留部と流路の両方が、第1の材料上に形成される。第2の液体貯留部が、高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御された第2の材料上に形成される。第1の材料と第2の材料とは異なるものである。

20 本発明に従う装置において、第1の液体貯留部および流路は、第1の材料からなる第1の基板上に形成することができる。第2の液体貯留部は、第2の材料からなる層を有する第2の基板上に形成できる。第1の液体貯留部に保持される液体が流路を介して第2の液体貯留部に移動できるよう、第1の基板と第2の基板とを組合わせることができる。このように、2つ以上の基板を組合せて本発明の装

25

置を構成することが好ましい。

少なくとも2つの基板を組合せた本発明の装置において、第1の基板は、第1の液体貯留部に保持される液体が流路を介して流れ込むことのできる孔を有することが好ましい。この孔の底部に第2の基板を設ければ、孔および第2の基板によって第2の液体貯留部を形成することができる。

本発明に従う装置において、第2の材料の表面のうち、特定の領域で高分子化合物の結晶核の形成および結晶の成長が促進されかつその他の領域で結晶核の形成が抑制されるよう、価電子が制御されていることが好ましい。

本発明において、第2の材料は、不純物が添加された半導体であることが好ましい。価電子の制御は、不純物の濃度および／または種類の制御によりなされ得る。

本発明において、第2の液体貯留部は、不純物が添加された半導体基板上、または電気絶縁性材料上に形成されかつ不純物が添加された半導体層上に形成することができる。

本発明において、第1の材料は電気絶縁性材料であることが好ましい。

#### 図面の簡単な説明

図1(a)および1(b)は、本発明による装置において、価電子が制御された材料上で結晶成長が進む様子を示す模式図である。

図2(a)、2(b)および2(c)は、本発明による結晶成長用装置の一例を示す平面図、X-X断面図およびY-Y断面図である。

図3は、図2(a)～2(c)に示す装置の使用例を示す模式図である。

図4(a)、4(b)、4(c)および4(d)は、本発明による結晶成長用装置のもう1つの例を示す平面図、X-X断面図、Y-Y断面図およびZ-Z断面図である。

図5(a)および5(b)は、本発明による結晶成長用装置のさらなる例を示す平面図およびX-X断面図である。

図6は、本発明による結晶成長用装置のさらなる例を示す平面図である。

図7は、複数のアイランドが形成された価電子制御材料を示す断面図である。



図 8 は、サイズの異なる複数の溝が形成された価電子制御材料を示す断面図である。

図 9 は、サイズが異なる複数の溝が形成された価電子制御材料を示す断面図である。

5 図 10 は、価電子が制御された材料の溝内で結晶が安定に成長できる様子を示す模式図である。

図 11 は、価電子が制御された材料の溝内で結晶が安定に成長できる様子を示す模式図である。

10 図 12 は、アイランドが形成された価電子制御材料の表面電位の分布を示す模式図である。

図 13 は、溝が形成された価電子制御材料の表面電位の分布を示す模式図である。

図 14 (a)～14 (f) は、図 2 (a)～2 (c) に示す装置の上部基板を形成するプロセスを示す概略断面図である。

15 図 15 (a)～15 (g) は、図 2 (a)～2 (c) に示す装置の下部基板の製造プロセスを示す概略断面図である。

図 16 (a)～16 (f) は、複数の溝が形成された下部基板を製造するためのプロセスを示す概略断面図である。

20 図 17 (a)～17 (e) は、複数の溝を有する下部基板を製造するためのプロセスを示す概略断面図である。

図 18 (a)～18 (e) は、イオン注入により導電型の異なる領域を下部基板に形成するためのプロセスを示す概略断面図である。

図 19 (a) および 19 (b) は、上部基板と下部基板とを接合して本発明に従う装置を製造するプロセスを示す概略断面図である。

25 図 20 (a)、20 (b) および 20 (c) は、本発明による結晶成長用装置のさらなる例を示す平面図、X-X 断面図および Y-Y 断面図である。

図 21 (a)～21 (d) は、図 20 (a)～20 (c) に示す装置の下部基板を製造するためのプロセスを示す概略断面図である。

図 22 (a)～22 (f) は、図 20 (a)～20 (c) に示す装置のための異なる下

部基板を製造するためのプロセスを示す概略断面図である。

図23(a)～23(f)は、図20(a)～20(c)に示す装置の上部基板を製造するためのプロセスを示す概略断面図である。

5 図24(a)および24(b)は、上部基板と下部基板とを接合して図20(a)～20(c)に示す装置を形成するためのプロセスを示す概略断面図である。

図25は、本発明による結晶成長用装置のさらなる例を示す模式図である。

図26は、本発明による結晶成長用装置のさらなる例を示す模式図である。

図27は、本発明の装置に形成される流路の例を示す平面図である。

図28は、図27に示す流路のL-L'断面図である。

10 図29(a)、29(b)および29(c)は、図27に示す流路のX-X'断面図、Y-Y'断面図およびZ-Z'断面図である。

図30は、本発明による結晶成長用装置の他の例を示す模式図である。

図31は、本発明による結晶成長用装置の他の例を示す模式図である。

図32は、図30に示す装置の使用例を示す模式図である。

15 図33(a)～33(c)は、図32に示す装置において貫通孔が設けられた反応セルにおいて液体が移動する様子を示す模式図である。

図34(a)および34(b)は、貫通孔が形成された液体貯留部における溶液濃度の変化を示す図である。

図35は、貫通孔およびアイランドが設けられた反応セルを示す平面図である。

20 図36は、図35に示す反応セルの概略断面図である。

図37(a)、37(b)および37(c)は、実施例において作製された結晶成長用装置を示す平面図、X-X断面図およびY-Y断面図である。

図38は、図37(a)～37(c)に示す装置を用いて結晶成長を行なう様子を示す模式図である。

25 図39は、従来の方法に用いられる装置の一例を示す模式図である。

図40(a)および40(b)は、従来の方法に用いられる装置のもう1つの例を示す模式図である。

発明を実施するための最良の形態

タンパク質をはじめとする生体高分子のほとんどは、溶液内において幾何学的に特異的な構造および静電的な相互作用（静電斥力・引力、ファンデルワールス力）によって分子間同士の認識が行なわれている。静電的なエネルギーに基づく分子間の相互作用においては、個々の分子最表面での僅かな空間的な電荷分布の相違が、分子間の認識度合い、分子集合体の作りやすさに決定的な影響を及ぼすことが予想される。したがって、溶液内をブラウン運動しながら衝突を繰返している個々の分子では、周期的かつ規則的な構造を有する分子集合体の核が非常に形成されにくい。さらに、結晶核が形成されたとしても、各分子表面の分子構造、電荷分布が全く同一ではなく冗長性を有しておれば、核の周囲に集合する各分子は互いに緩く結合することになり、よって結晶性が低下する。

タンパク質分子の結晶生成に関しては、その核生成の初期過程が重要であるとの報告がなされている。Yonath 等は、*Bacillus Stearothermophilus* より抽出された巨大ナリボソームサブユニットの結晶化初期過程を電子顕微鏡により観察している。それによれば、結晶化が進行するためには、初期過程として、各分子が2次元的な規則構造（編目状、星状、千鳥格子状等）をとって凝集することが必須であると述べている（*Biochemistry International*, Vol. 5, 629-636 (1982)）。

これがすべての物質に共通して必須であるかどうかは不明である。一般に、タンパク質分子は分子間相互作用が弱く、しかも分子表面が局部的に帯電しているため、凝集しにくい。しかし、そのような分子においても、結晶化の初期過程において核となる分子を2次元的に配列させる何らかの条件を整えば、その後の結晶化は、これを核としてエピタキシャル的に進行するものと考えられる。

本発明は、結晶核を安定して生成させるため、価電子が制御された材料を結晶化すべき物質を含む液に接触させる装置を提供する。該材料は、液と接触する表面から内部に向かって、あるいは該材料の断面内において、価電子制御により電子または正孔の濃度を制御することができ、それによって材料表面の電気的狀態を制御することができる。たとえば、図1(a)および1(b)に、材料表面において結晶核が固定され、結晶が成長していく様子を模式的に示す。図1(a)に示すように、価電子制御により、所定の電気的狀態とされる材料1の表面に、結

晶核 2 が静電的な作用によって固定される。そして、図 1 (b) に示すように、タンパク質等の化合物は、静電的な相互作用により、材料表面に凝集し、結晶核の生成が促進され、結晶の成長がもたらされる。したがって、材料表面の電気的特性を制御することにより、結晶化の制御が可能となる。たとえば、材料表面に  
5 固定される結晶核の種類、量、配列密度等を価電子制御により調整することができ、それによって結晶化の制御が可能となる。また、生成された結晶核が材料表面に固定されるため、溶液内の対流等による核の微小な変動が抑制され、核の形成に従って規則的に分子が集合し、結晶性が向上することも期待される。結晶化すべき分子の表面の電荷分布が溶液の pH や分子の変性によって微妙に変化して  
10 も、材料表面には必ず該分子の実効表面電荷を補償する空間電荷が誘起されるため、結晶核の生成および 2 次元的な配列が容易にかつ優先的に行なわれることが期待される。

本発明は、上述したような価電子が制御された材料と、他の材料とを組合せて、結晶化のためのより好ましい条件をもたらす装置を提供する。この装置において、価電子が制御された材料上には、結晶化させるべき高分子化合物を含む液体を保持するべく、液体貯留部が形成される。一方、他の材料上には、緩衝溶液、沈殿剤等の結晶成長のために用いられるべき液体を保持するための貯留部が形成  
15 される。これら 2 つの貯留部は、流路によってつなぐことができる。流路は、価電子が制御された材料上に形成してもよいし、他の材料上に形成してもよい。少なくとも 2 つの液体貯留部間で、流路を介して結晶化に関与する液体を移動させ、液体の混合または拡散によって結晶化のためにより好ましい条件を作り出すことができる。液体の拡散を空間的および時間的に連続的に変化させ、結晶化のための条件の微妙な調整が可能になる。

液体貯留部は、材料の加工、たとえば材料における溝、孔等の形成によって設けることができる。たとえば、半導体装置の製造プロセスに一般に用いられる微細加工プロセスによって、基板に小さな窪みまたは孔を形成して、少量の試料溶液または試薬を保持するためのセルを形成することができる。価電子が制御された材料からなる基板、たとえば不純物が添加された半導体基板には、結晶を形成および成長させるための液体保持部である反応用セルを形成することができる。  
25

その他の材料からなる基板、たとえばガラス基板上には、結晶化のために用いられる液体の試薬を保持するためのセルを形成することができる。流路も、半導体装置の製造プロセスに一般に用いられる微細加工プロセスによって形成することができる。流路は、基板表面を直接加工して得られる微細な溝、および／または

5 基板上に形成された膜、たとえば絶縁性膜を加工して得られる微細な溝とすることができる。液体は、毛管現象または流路内の圧力差を駆動力として微細な溝の中を移動することができる。溝の幅、深さ等を変えることにより、溝を流れる液体の流量を変えることができる。また、上流と下流との間に段差を設ければ、1方向の流れを作り出すことができる。

- 10 本発明の重要な特徴の1つは、価電子が制御された材料と、それと異なる他の材料とを組合せて装置を構成していることである。不純物が添加された半導体基板、たとえばシリコン基板は比較的高価である。また、このような材料は、加工性の点でしばしば制約を伴う。本発明によれば、この高価で比較的加工しにくい材料を必要最小限にとどめ、できるだけ安価でかつ加工しやすい材料を用いること
- 15 ができる。すなわち、本発明に従う装置において、結晶の成長に必要な部分（第2の液体貯留部）に価電子が制御された材料を用いる一方、その他の部分にはより安価でかつ加工しやすい材料を用いることができる。このような材料の組合せにより、加工のフレキシビリティが高くかつコストの低い装置を提供することができる。

- 20 価電子が制御された材料として、不純物の種類、濃度、濃度分布等が制御された半導体を好ましく用いることができる。特に、ドーピングされたシリコン結晶等の半導体結晶を好ましく用いることができる。さらに、価電子が制御された材料として、その他の、電荷分布が制御された無機化合物、有機化合物、高分子化合物およびそれらの複合物を使用してもよい。一方、価電子が制御された材料と
- 25 組合せられる他の材料には、汎用性のある材料を用いることができる。他の材料には、たとえば、ガラス、ポリカーボネート等の樹脂、ステンレス鋼等の金属などがある。他の材料は、ガラス、樹脂等の電気絶縁性材料であることが好ましい。耐熱性、耐久性、強度、加工性等の点から、ガラスは特に好ましい材料である。異なる材料を組合せる際、溶接、接着などの接合方法を用いることができる。ガ

ラス基板と半導体基板とを接合する場合、陽極接合法が好ましく用いられる。陽極接合法は、重ね合わせた材料間に高電圧を印加してその界面を熔融させ、接合する方法である。陽極接合においてこれらの基板は高温に加熱されるが、熱膨張係数が比較的小さいガラス基板は変形しにくい。以下、複数種の材料を用いた装置の具体例を示す。

図2(a)～2(c)に示す結晶成長用装置20は、上部基板21とそれに接合された下部基板22とからなる。上部基板21には、2つの窪み、1つの貫通孔、およびそれらの間の2本の蛇行した溝が形成されている。2つの窪みは、それぞれ液体を保持するための貯留部23aおよび23bを構成する。2本の溝は、液体貯留部23aおよび23bからそれぞれ液体を移動させる流路26aおよび26bを構成する。上部基板21のほぼ中央に形成された貫通孔の底には、貫通孔の開口を塞ぐように下部基板22が接合されている。上部基板21に形成された貫通孔とそれぞれを塞ぐ下部基板22とによって、流路26aおよび26bから導かれる液体を保持するための貯留部24が形成される。上部基板21と下部基板22とは異なる材料によって形成される。たとえば上部基板21はガラス基板であり、下部基板22はシリコン半導体結晶からなる基板である。シリコン半導体からなる下部基板22は、その上に形成された酸化膜( $\text{SiO}_2$ 膜)25を介して上部基板21に接合されることが好ましい。シリコン基板とガラス基板とを陽極接合法によって接合する場合、たとえば次のような工程をとることができる。

まず、シリコン基板表面に $\text{SiO}_2$ 膜を形成しておき、これとガラス基板とを密着させる。そして、300℃程度に加熱し、両基板間に高電圧(最大で1kV程度)を印加する。これにより、界面の $\text{SiO}_2$ が熔融して、シリコン基板とガラス基板とが接合される。

図2(a)～2(c)に示す装置は、たとえば図3に示すような結晶成長用装置30に組込むことができる。上部基板21と下部基板22とからなる装置20は、蓋32によってほぼ密閉された容器31内で支持部材33によってほぼ水平に支持される。容器31には沈殿剤溶液34が収容され、容器31内に所定の沈殿剤溶液34による蒸気圧が与えられる。上部基板21の液体貯留部23aには、たとえば緩衝溶液、溶媒、沈殿剤溶液などの結晶化に有用な液体35が収容される。

もう1つの貯留部23bにも、緩衝溶液、溶媒、沈殿剤などの結晶化に有用な液体36が収容される。液体35および36は異なっているとしてもよいし同じでもよい。これらの液体35および36は、流路26aおよび26bをそれぞれ介して液体貯留部34に流れ込む。液体貯留部34には予めタンパク質等の結晶化すべき高分子化合物を含む溶液（母液）37が収容される。母液37に液体35および36がそれぞれ混合され、結晶化に望ましい条件が作られる。

たとえばドーピングによって価電子が制御された半導体基板である下部基板22の表面22aには、溶液貯留部34に保持される液体に応じて上述したような電気的状態がもたらされる。タンパク質等の化合物は、静電的な相互作用により、表面22aに凝集し、結晶を形成するようになる。表面22a上で、結晶核が固定され、結晶の成長が促進される。

図3に示すような液体の配置に代わって、最初に液体貯留部37にはいかなる液体も収容せず、一方の貯留部23aに結晶化に有用な試薬を入れ、他方の貯留部23bに結晶化すべき物質を含む母液を入れ、貯留部34においてそれらを混合し結晶成長を行なってもよい。また、分子複合体を形成したい場合、貯留部37に1つの分子種を収容し、上部基板21に形成された貯留部23aおよび23bからそれぞれ他の分子種および複合体形成に有用な試薬を貯留部34に供給することもできる。このように複数の貯留部とそれをつなぐ流路を設けることによって、結晶化のための条件設定が1つの装置内でできるようになる。

以上に示してきたとおり、本発明の装置において、結晶の成長が行なわれるべき場所には価電子が制御された材料が用いられ、結晶の成長を行なわない部分には、他の材料が用いられる。このような組合せは、装置の形状、構成等について自由度を増やし、しかも装置のコストを低減させる。加工された複数の基板を接合することによって、シンプルかつコンパクトな装置を得ることができる。

図3に示すように、貯留部23aまたは23bと貯留部34との間には段差がある。すなわち、貯留部34は、重力の方向について、貯留部23aまたは23bよりも低い位置にある。この段差のため、貯留部34に保持される液体は貯留部23aまたは23bに流れ込まない。一方、この段差のため、流路26aおよび26bの貯留部34側と貯留部23aおよび23b側との間に圧力差が生じ、

この圧力差を駆動力として液体 3 5 および 3 6 は貯留部 3 4 に流入することができる。

図 4 (a) ~ 4 (d) に示す結晶成長用装置 4 0 は、種々の条件下で結晶化のためのスクリーニングを行なうのに適している。装置 4 0 は、上部基板 4 1 および下部基板 4 2 からなる。上部基板 4 1 には、10 個の窪み、5 個の貫通孔、および 10 本の溝が形成されている。それぞれの窪みは、液体貯留部 4 3 a、4 3 b、4 3 c、4 3 d、4 3 e、4 3 f、4 3 g、4 3 h、4 3 i および 4 3 j を構成する。それぞれの窪みにつながる溝は流路 4 6 a、4 6 b、4 6 c、4 6 d、4 6 e、4 6 f、4 6 g、4 6 h、4 6 i および 4 6 j を構成する。上部基板 4 1 の中央部に形成された 5 つの貫通孔は、下部基板 4 2 によって塞がれている。上部基板 4 1 はたとえばガラスからなり、下部基板 4 2 はドーピングされた半導体基板からなる。上部基板 4 1 は、下部基板 4 2 に設けられた酸化膜 (SiO<sub>2</sub> 膜) を介して下部基板 4 2 に接合される。下部基板 4 2 の表面と上部基板 4 1 に形成された貫通孔のそれぞれとによって、液体貯留部 4 4 a、4 4 b、4 4 c、4 4 d および 4 4 e が形成される。液体貯留部 4 3 a ~ 4 3 j にそれぞれ保持される液体は、流路 4 6 a ~ 4 6 j を介して液体貯留部 4 4 a ~ 4 4 e に流れ込むことができる。この装置では、3 つの液体貯留部を 2 本の流路でつないだユニットが 5 個設けられる。このように、複数の液体貯留部を流路で連結したユニットを 1 つの装置に多数設けることによって、1 つの装置で一度に多数の結晶化条件を作り出すことができる。

図 5 (a) および 5 (b) に示す結晶成長用装置 5 0 も、種々の条件下で結晶化プロセスのスクリーニングを行なうのに適している。装置 5 0 は、上部基板 5 1 および下部基板 5 2 からなる。たとえば、上部基板 5 1 はガラスからなり、下部基板 5 2 はドーピングされた半導体シリコン結晶からなる。上部基板 5 1 の中央部に形成された 5 個の貫通孔の底部に、その開口を塞ぐように下部基板 5 2 が設けられる。下部基板 5 2 は、その上に形成された酸化膜 5 5 を介して上部基板 5 1 に接合される。これらの貫通孔と下部基板 5 2 とによって、液体貯留部 5 4 a、5 4 b、5 4 c、5 4 d および 5 4 e が形成される。上部基板 5 1 には、面積の大きな液体貯留部 5 3 a、ならびに面積の小さな液体貯留部 5 3 b、5 3 c、5



3 d、5 3 e および 5 3 f が設けられる。液体貯留部 5 3 a には長さおよび幅の異なる流路 5 6 a、5 6 b、5 6 c、5 6 d および 5 6 e が接続される。したがって、液体貯留部 5 3 a に保持される液体は、異なる流量で流路 5 6 a ~ 5 6 e を介して液体貯留部 5 4 a ~ 5 4 e に流れ込む。一方、液体貯留部 5 3 b ~ 5 3 f にも長さおよび幅の異なる流路 5 6 f、5 6 g、5 6 h、5 6 i、および 5 6 j が接続される。したがって、液体貯留部 5 3 b ~ 5 3 f のそれぞれから異なる流量で液体を移動させることができる。液体貯留部 5 4 a ~ 5 4 e は、それぞれ異なる流量で液体を受入れるため、貯留部 5 4 a ~ 5 4 e でそれぞれ得られる混合液の組成および濃度は異なる。この装置は、同一の試薬を用いて異なる複数の結晶化条件を作り出すのに適している。

図 6 に示す結晶成長用装置 6 0 は、さらに多くの結晶化条件を作り出すため適している。装置 6 0 は、上部基板 6 1 と下部基板 6 2 a および 6 2 b とからなる。これらの基板は、図 2 (a) ~ 2 (c)、図 4 (a) ~ 4 (d) および図 5 (a) ~ 5 (b) に示す装置と同様、上部基板 6 1 に設けられた貫通孔を塞ぐように接合される。上部基板 6 1 はガラス、樹脂等の絶縁性材料から形成されることが好ましく、下部基板 6 2 a および 6 2 b はドーピングされた半導体基板等の価電子が制御された材料からなる。装置 6 0 は、結晶化に必要な液体を保持する 2 4 の液体貯留部、結晶成長が行なわれる 1 6 の液体貯留部、およびそれらをつなぐ 3 2 本の流路を有する。それらの流路の幅および長さが異なるため、結晶成長用の液体貯留部に保持される液体の組成や濃度は異なることができる。装置 6 0 は、複数の試薬を用いてより多くの結晶化条件を作り出すのに適している。

本発明に従う装置において、タンパク質等の生体高分子の結晶は上述したように価電子が制御された材料の表面で成長する。溶液中で解離した分子の実効表面電荷は、価電子が制御された材料の表面において補償され、それにより結晶核の生成および 2 次元的配列が制御され得る。微小な液体貯留部において結晶の成長を行なえば、価電子が制御された材料表面からの静電引力が効果的に働き、対流による結晶核の移動が抑制される。一般に、電解質溶液中における帯電分子間の凝集性は、分子間に働く電気二重層斥力とファンデルワールス力との和に依存するため、電解質溶液中に添加する表面電位調整のための塩濃度をコントロールす

ることが、分子の凝集の際に重要となる。本発明による装置では、価電子の制御によって静電特性が予め調整された材料を用い、その材料表面に効果的に分子を凝集させていくことができる。たとえばドーピングされた半導体を用いる場合、材料表面の誘起空間電荷層に基づく表面電位は、添加される不純物の濃度にほぼ比例して変化させることができる。また本発明による装置において、塩濃度の調整は、複数の液体貯留部間で試薬を移動させ混合物を調製することによって達成される。

価電子を制御するための材料には、特に、結晶シリコン等の半導体結晶が好ましく用いられる。半導体装置に通常用いられるシリコン基板等の半導体基板は最適な材料の1つである。さらに、ガラス基板等の電気絶縁性基板上に堆積された多結晶性シリコン、非晶質性シリコンなども価電子を制御するための材料として好ましく用いられる。さらには、結晶化のための溶液中で安定であり価電子の制御によって表面電位を制御することのできる他の無機材料、および有機材料を用いてもよい。

本発明による装置において、価電子が制御された材料の表面の性状は、結晶化すべき物質の性質、結晶化の難易等に応じて変えることができる。一般に、平滑でかつ結晶欠陥の少ない表面が好ましい。シリコン単結晶等の半導体単結晶の表面は通常極めて平滑であり、しかも結晶欠陥および固定電荷が極めて少ないため、余分な結晶核が発生しにくいという長所を有する。半導体装置の製造に用いられるシリコン基板等の半導体基板は、そのまま価電子を制御するための材料として好ましく用いることができる。また、ガラス基板等の絶縁性基板の表面に蒸着された多結晶シリコン層または非晶質シリコン層の表面も好ましく用いることができる。さらに、結晶化すべき分子の特性に応じて、シリコン表面にシリコン酸化膜を形成して親水性を高めてもよい。

一般に、半導体材料等における価電子の制御は、特定の不純物を、制御された濃度だけ添加することによって行なうことができる。添加される不純物の種類、濃度、分布等を変化させれば、価電子が制御された材料表面の結晶化に対する能力も変化する。材料表面の結晶化に対する能力が最大になるよう不純物の種類、濃度等を選択することが望まれる。一方、添加される不純物の分布を制御すれば、

特定の領域にのみ結晶化にとって有利な状態を生成させることもできる。すなわち、材料表面の特定の領域に結晶が優先的に成長できるよう、材料の特定の領域に特定の種類および濃度の不純物を添加することができる。以下、シリコンを例にとって、不純物添加による価電子の制御についてさらに説明する。

- 5 解離して負の実効表面電荷を有する高分子化合物を含有する電界質水溶液を、価電子制御されたNまたはP型シリコン結晶に接触させると、N型シリコン表面に対してはショットキー障壁が形成される一方、P型シリコン表面に対してはオーミック性接触が得られる。P型シリコン表面では、負の電荷を有する分子に対して、バルクシリコン側から常に正孔が供給されるため（オーミック特性）、分子は常にシリコン表面に凝集し続けることが予想される。一方、N型シリコンの表面には、水溶液の電解質濃度に依存した表面電位が発生するとともに、内部に空間電荷層領域が形成される。この空間電荷量は、N型シリコンのドーパント濃度にも依存する。したがって、電解質溶液中において負の電荷を有する分子は、このN型シリコンの有する正の空間電荷を少なくとも補償するまで、シリコン表面に凝集し続けることが予想される。よって、空間電荷層領域が形成されるシリコン表面に対しては、高分子化合物の凝集および結晶化が制限されて起こるのに比べ、オーミック性接触が形成されるシリコン表面に対しては、高分子化合物の凝集が無制限に進行することが予想される。
- 10
- 15

- また、たとえばN型シリコンにおいて、不純物濃度が異なる2以上の領域が形成されている場合も、それらの領域によって異なる態様で結晶化が進むことが予想される。N型シリコンの不純物濃度が低く高抵抗の場合と、不純物濃度が高く低抵抗の場合について、その効果の相違について述べる。N型シリコンの場合、低不純物濃度（あるいは高抵抗）基板では、ドーパント濃度が低いいため表面近傍に形成される空間電荷層の幅が広くなることにより、空乏層容量が小さく、したがってシリコン表面に誘起される表面電位は高不純物濃度（あるいは低抵抗）基板の場合と比較して、大きくなることが予想される。この表面電位は、高分子化合物の有する負の実効表面電位と極性が逆となるため、静電的な引力の作用により凝集が促進される。すなわち、低不純物濃度で高抵抗のN型シリコン基板の方が、高不純物濃度で低抵抗のN型シリコン基板より、基板表面により多くの結晶
- 20
- 25

を析出させることができる。

解離して正の実効表面電荷を有する高分子化合物については、上述したと逆関係の導電型または抵抗値について、同様の効果がもたらされと考えられる。

5 以上の特性を利用して、基板の特定の領域で結晶核の形成を抑制し、特定の領域で結晶核の生成を促進させることができる。たとえば、N型シリコンの領域とP型シリコンの領域とを組合せることによって、いずれかの領域において結晶の成長を促進させ、残りの領域において結晶の成長を抑制することができる。また、高抵抗のN型またはP型シリコンと低抵抗のN型またはP型シリコンとを組合せることによって、同様の効果を得ることができる。空間的に抵抗および/または導電型の異なる領域を形成するには、導電型または抵抗値の異なる層を積層した後特定の領域をエッチングする方法、およびシリコン表面の特定の領域に選択的に不純物を添加する方法を用いることができる。前者の方法の場合、エッチングによって島状に形成された部分を結晶化のための領域に用いてもよいし、エッチングにより形成された溝または孔の部分を結晶化のために用いてもよい。特定の領域で結晶化を促進させれば、余分な結晶核の生成や双晶の成長を抑制することができる。

図7は、島状の結晶化促進領域を有する材料を示している。島状の領域78はそれぞれ、シリコン基板72と異なる導電型または抵抗値を有する。また、図8および図9に示すように、複数の溝または孔を有する材料を用いることができる。

20 たとえば、P型シリコン基板80の表面に、N型シリコン層81が形成される。さらに表面には、複数のV字状の溝（V溝）82a、82b、82cおよび82dが形成される。それぞれのV溝における深さおよび開口部の幅は異なっている。図9に示すように、P型シリコン基板90の表面には、N型シリコン層91が形成される。さらに表面には、複数の凹状の溝92a、92bおよび92cが形成される。それぞれの溝における開口部の幅は異なっている。溝92aは、開口部の幅よりも深さの方が顕著に長い井戸状または角柱状の溝である。溝92bおよび92cは、階段状の内壁を有している。溝の深部にいくに従って、開口部の幅は狭くなっている。図8および図9に示す材料は、溶液中で解離して負の実効表面電荷を有する高分子化合物の結晶化を促進することができる。一方、逆の解離

特性を有する高分子化合物に対しては、シリコン基板の極性を図8および図9に示したものと逆にすればよい。すなわち、溶液中において正の実効電荷を有する高分子化合物の結晶化を目的とする場合、N型シリコン基板上にP型シリコン層を形成した材料を用いることができる。いずれの材料においても、溝内には、基板材料が露出している。基板材料が露出した溝内で安定した結晶成長を行なうことが可能になる。

図10および図11は、溝または孔の結晶成長に対する作用効果を説明するためのものである。図10に示すように、PまたはP<sup>-</sup>シリコンよりなるV溝部102は、NまたはN<sup>+</sup>シリコン層よりなる表面部101と比較して、解離した高分子との静電相互作用が及ぶ範囲（電気二重層の幅と考えてもよい）が広がることを期待される。図において、点線で示した領域104が、電気相互作用の及ぶ範囲である。すなわち、表面部101上よりもV溝部102において領域104は厚くなっている。特に、V溝部102の最も深い中央部は、この作用の及ぶ領域の重なりにより、領域102の幅が最も広がることが予想される。したがって、V溝部102の最深部において、結晶核または結晶核となり得る分子集合体105は、V溝表面から静電引力をほぼ等方的に受け、V溝内において拘束される。分子凝集体105について、重力に基づく溶液中の対流の影響が静電引力によって抑制されるため、結晶核の生成および結晶の成長が安定して起こり得ると期待される。一方、NまたはN<sup>+</sup>シリコンからなる表面部101上では、結晶核の形成が抑制される。もし、この表面に結晶核が形成されても、溶液内の対流の影響を受けて、結晶核近傍での拡散供給層の幅が変動するため、結晶性の低下または成長速度の低下がもたらされると考えられる。したがって、溝部102において選択的に結晶の成長が進み、大型の結晶が得られる。図11に示す溝内においても、同様のメカニズムによって安定した結晶成長が起こるものと考えられる。すなわち、溝部112の開口幅が最も狭い部分において、結晶核115が生成し、静電引力によって拘束される。静電相互作用の及ぶ領域114は、溝部112の最深部において最も幅が広がっている。一方、基板110上に形成されたNまたはN<sup>+</sup>シリコン層111上では、結晶の生成が抑制される。したがって、溝部112の深部において結晶核が生成し、結晶が成長する。

価電子が制御された材料には、複数の溝、孔またはアイランドが形成されることが好ましい。何種類かのサイズの異なる溝、孔、またはアイランドを1つの価電子が制御された材料に形成しておくことが有利である。溝、孔またはアイランドのサイズを変えれば、結晶化のための異なる環境をもたらすことができる。結晶化すべき高分子化合物の種類に応じて、溝、孔またはアイランドのサイズを適当な範囲で変えることが好ましい。これらのサイズについて、たとえば、幅は0.01~100  $\mu\text{m}$ の範囲が好ましく、長さは0.1~10 mmの範囲が好ましい。また、複数の溝、孔またはアイランドは、1  $\mu\text{m}$ ~1 mmの範囲の間隔で形成することが好ましい。溝または孔の深さは、0.01~200  $\mu\text{m}$ の範囲が好ましい。これらのサイズは、結晶成長用装置の製造上特に好ましいものであるが、これらの範囲を超えるサイズの溝、孔、またはアイランドを形成しても差支えない。

N型シリコン層の上にP型シリコン層のアイランドを形成することによって、両者の空間電荷により形成される表面電位は、たとえば図12のようになると予想される。よって、この表面電位の分布に対応して結晶核が生成されるものと考えられる。図13は、溝を形成した基板の表面電位を示している。たとえば、N型シリコン層上にP型シリコン層を全面的に形成した後、エッチングにより溝を形成してN型シリコン層を露出させることができる。N型シリコン層が露出した溝は表面電位が低くなっている。

図2(a)~2(c)に示す結晶成長用装置の上部基板は、たとえば図14(a)~14(f)に示すように製造される。まず、装置に必要な大きさの基板121を準備する(図14(a))。基板121は、たとえばガラス製である。次に、基板121上に所定のパターンを有する保護膜127aを形成する(図14(b))。中心に孔を有する保護膜127aは、レジスト材料を用いた通常のリソグラフィ法により形成することができる。次に、エッチングにより、基板121の中央部に孔128を形成する(図14(c))。ガラス基板をエッチングする場合、HF(フッ酸)を含む水溶液を用いたウェットエッチング法やサンドブラスト法等を用いることができる。次いで、保護膜を加工して所定のパターンを有する保護膜127bを形成する(図14(d))。保護膜のパターン化には、通常のリソグラフィ法を用いることができる。次いで、エッチングを行ない、基板121の

- 保護膜 1 2 7 b で覆われていない部分に窪み 1 2 3 a および 1 2 3 b、ならびに溝 1 2 6 a および 1 2 6 b を形成する (図 1 4 (e))。この工程において、中央の孔は浸食され、貫通孔 1 2 4 が形成される。保護膜を除去して、窪み 1 2 3 a および 1 2 3 b、貫通孔 1 2 4 および溝 1 2 6 a および 1 2 6 b を有する基板 1 2 1 が得られる (図 1 4 (f))。エッチングを用いた加工方法は、より微細な形状を有する構造物を得るのに適している。しかしながら、他の方法によって必要な形状を有する基板を作成してもよい。たとえば、超音波ドリルを用いて加工することができる。また、樹脂等を基板材料に用いる場合、金型成形などを用いることができる。
- 10 図 2 (a) ~ 2 (c) に示す装置の下部基板は、たとえば図 1 5 (a) ~ 1 5 (g)、1 6 (a) ~ 1 6 (f)、1 7 (a) ~ 1 7 (e) または 1 8 (a) ~ 1 8 (e) に示すようなプロセスによって調製することができる。図 1 5 (a) ~ 1 5 (g) は、複数のアイランドを有する下部基板を製造するためのプロセスを示している。まず、必要な大きさを有する基板 1 3 2 を準備する (図 1 5 (a))。基板 1 3 2 は、たとえばシリコン結晶からなる。次に、基板 1 3 2 に対してイオン注入を行なう (図 1 5 (b))。基板 1 3 2 上には所定の深さで不純物層 1 3 3 a が形成される (図 1 5 (c))。不純物層 1 3 3 a 上に酸化シリコン ( $\text{SiO}_2$ ) 膜 1 3 4 a を形成する (図 1 5 (d))。次に、酸化シリコン膜を所定のパターン 1 3 4 b にエッチングする (図 1 5 (e))。露出した基板表面にエッチングを施した後、
- 15 酸化シリコン膜を除去すれば、不純物層のアイランド 1 3 3 b が基板 1 3 2 上に形成される (図 1 5 (f))。次いで、不純物層のアイランド 1 3 3 b を有する基板 1 3 2 の周囲に酸化シリコン ( $\text{SiO}_2$ ) 膜 1 3 5 を形成する (図 1 5 (g))。以上のプロセスは、半導体装置の製造プロセスに通常用いられる方法に従って行なうことができる。
- 20 図 1 6 (a) ~ 1 6 (f) は、V 溝を有する下部基板の製造方法を示している。必要な大きさを有するシリコン等の基板 1 3 2' を準備する (図 1 6 (a))。基板 1 3 2' 上に不純物層 1 3 3' a を形成する (図 1 6 (b))。不純物層 1 3 3' a 上に酸化シリコン膜 1 3 4' a を形成する (図 1 6 (c))。酸化シリコン膜を所定のパターン 1 3 4' b にエッチングする (図 1 6 (d))。露出した
- 25

基板表面に異方性エッチングを施せば、V溝136' a、136' bおよび136' cが得られる(図16(e))。酸化シリコン膜を除去した後、基板132'の周囲に酸化シリコン膜135'を形成して下部基板を得る(図16(f))。

- 5 代わりに図17(a)~17(e)に示すように溝を形成してもよい。まず、必要なサイズの基板132''を準備する(図17(a))。次いで、イオン注入等の方法によって基板132''上に不純物層133''を形成する(図17(b))。適当なリソグラフィ等を行なった後、ドライエッチングにより所定の部分に溝136'' aを形成していく(図17(c))。開口部を広くしたい場合、さらにドライエッチングを繰返すことによって、異方的に深くかつ開口部の面積の異なる複数の溝136'' bおよび136'' cが得られる(図17(d)および17(e))。基板132''の周囲に酸化シリコン膜135''を形成して、下部基板が得られる(図17(e))。

- 15 また、図18(a)~18(e)に示すように、平らな基板の特定の領域に所定のパターンで不純物層を形成してもよい。まず、必要な大きさの基板142を準備する(図18(a))。基板142上に保護膜144 aを形成する(図18(b))。リソグラフィ法等によってパターン化された保護膜144 bを形成した後、イオン注入を行なう(図18(c))。保護膜でマスクされた部分以外の部分に不純物層143が形成される(図18(d))。基板143の周囲に酸化シリコン膜145を形成し、所望の下部基板を得る(図18(e))。

- 20 図19(a)および19(b)に示すように、上部基板と下部基板とを組合せて図2(a)~2(c)に示すような結晶成長装置を得ることができる。まず図19(a)に示すように上部基板151と下部基板152とを準備し、図19(b)に示すとおりそれらを接合する。下部基板152は、上部基板151の中央に形成された開口部を塞いでいる。ガラス基板とシリコン基板とを接合する場合、たとえば陽極接合法を用いることができる。一方、基板に耐熱性の劣る材料を用いる場合、接合のため接着剤などを用いてもよい。

図20(a)~20(c)に示す装置は、下部基板として半導体基板の代わりに、半導体以外の材料からなる基板上に堆積された半導体層を用いている。結晶成長



用装置 160 は、上部基板 161 および下部基板 162 からなる。上部基板 161 は、2つの窪み、3つの貫通孔および6本の溝を有する。それぞれの窪みは液体貯留部 163a および 163b を形成する。液体貯留部 163a には長さの異なる溝で形成された流路 166a、166b および 166c がつながる。液体貯留部 163b にも長さの異なる溝で形成された流路 166d、166e および 166f がつながる。上部基板 161 に形成された3つの貫通孔のそれぞれに1対の溝がつながっている。上部基板 161 は、たとえばガラス製である。下部基板 162 もガラス製とすることができる。下部基板 162 上には第1の半導体層 168 が形成され、第1の半導体層 168 上には第1の半導体層と導電型または抵抗値の異なる第2の半導体層 169 が形成される。第2の半導体層 169 のアイランドは、第1の半導体層 168 上においてマトリックス状に配列される。半導体層の部分が上部基板 161 の貫通孔に入るよう、上部基板 161 と下部基板 162 とが接合される。上部基板 161 の貫通孔と下部基板 162 上に形成される半導体層 168 および 169 によって液体貯留部 164a、164b および 164c が形成される。液体貯留部 163a および 163b にそれぞれ保持される液体は、流路 166a ~ 166f を介して液体貯留部 164a、164b および 164c に流れ込むことができる。

図 21(a) ~ 21(d) に示すように、下部基板上に所定のパターンで半導体層を形成することができる。まず、必要な大きさのガラス等からなる基板 172 を準備する (図 21(a))。次に、基板 172 上に第1の半導体層 178a および第2の半導体層 179a を順に堆積する (図 21(b))。2つの半導体層にはそれぞれ異なる濃度および/または種類の不純物が添加される。半導体層の形成には、プラズマ CVD 等を用いることができる。次に、リソグラフィ法等を用いて半導体層の一部をエッチングし、パターン化された半導体層 178b および 179b を形成する (図 21(c))。さらに、リソグラフィを用いて、第2の半導体層の一部をエッチングし、パターン化された第2の半導体層 179c を得る (図 21(d))。以上の工程により、第2の半導体のアイランドが第1の半導体層上に配列された下部基板が得られる。

半導体層のアイランドを有する下部基板の代わりに、図 22(a) ~ 22(f) に

示すようなプロセスによって形成された半導体層の溝を有する下部基板を用いてもよい。まず、必要な大きさのガラス基板172'を準備する(図22(a))。基板172'上に第1の半導体層178'aおよび第2の半導体層179'aをそれぞれプラズマCVD等により堆積する(図22(b))。両方の半導体層を  
5 エッチングしてパターン化された第1の半導体層178'bおよび第2の半導体層179'bを得る(図22(c))。半導体層上に所定のパターンを有する酸化シリコン膜(SiO<sub>2</sub>膜)175'を形成する(図22(d))。酸化シリコン膜175'をマスクとして異方性エッチングを行なえば、複数のV溝176'が得られる(図22(e))。次いで、酸化シリコン膜を除去する(図22  
10 (f))。ガラス基板172'上には、複数のV溝が形成された第1の半導体層178'cおよび第2の半導体層179'cが得られる。V溝の底には、第1の半導体層178'cが露出する。

図20(a)~20(c)に示す装置の上部基板は、図23(a)~23(f)に示すプロセスによって調製することができる。まず、必要な大きさのガラス等からなる基板181を準備する(図23(a))。基板181上に所定のパターンを有する保護膜187aを形成する(図23(b))。エッチングにより基板181  
15 に孔188を形成する(図23(c))。次に、さらにパターン化された保護膜187bを形成する(図23(d))。保護膜187bをマスクとしてエッチングを行なえば、基板181上に窪み183、溝186aおよび貫通孔184が形成される(図23(e))。次いで、保護膜を除去すれば、必要な形状を有する上部基板が得られる(図23(f))。

図24(a)および24(b)に示すように2つの基板が接合される。図24(a)に示すように、上部基板191と下部基板192が向かい合わせに配置される。そして、図24(b)に示すように、半導体層の部分が上部基板191の  
25 貫通孔に入り込むよう、上部基板191と下部基板192とが接合され、結晶用成長装置190が得られる。接合には、陽極接合法が好ましく用いられる。

本発明に従って、図25に示すような装置を提供することもできる。装置には、複数の溶液貯留部202a、202b、202c、202d、204が形成されている。溶液貯留部202a~202dは、本発明に従う第1の液体貯留部に相

当し、高分子化合物を含む溶液およびそれ以外の必要な溶液をそれぞれ保持する。多数の溶液貯留部 204 は、本発明に従う第 2 の液体貯留部に相当する。溶液貯留部 204 は、不純物が添加された半導体基板などの価電子が制御された材料上に形成される。一方、溶液貯留部 202 a ~ 202 d は、ガラス等の汎用材料上に形成される。多数の溶液貯留部 204 は、溶液貯留部 202 a ~ 202 d から供給される複数種の溶液を受入れ混合液を調製するためのものである。溶液貯留部 204 において、高分子化合物を含む溶液とその他の溶液とが出会い、結晶化のための条件が調製される。そして、多数の溶液貯留部 204 のいずれかにおいて、最適な結晶化条件が作り出され、そこで結晶化が促進される。溶液貯留部 202 a と溶液貯留部 204 とは流路 206 a により連結される。同様に、貯留部 202 b、202 c および 202 d は、流路 206 b、206 c、206 d1、206 d2 および 206 d3 により対応する貯留部 204 と連結される。また、多数の溶液貯留部 204 間にも流路 226 が設けられる。流路 226 は、隣り合う貯留部 204 同士を連結する。貯留部 202 a、202 b および 202 c の周辺部には加熱用電極 208 が形成される。電極 208 は、パッド 201 に接続される。貯留部 202 d の周辺部にも加熱用電極 228 が設けられ、電極 228 はパッド 221 に接続される。電極 208 および 228 にパッド 201 および 221 を介してそれぞれ通電することにより、貯留部 202 a ~ 202 d に保持される溶液は加熱される。加熱によって溶液の移行が促進される。

本発明に従う装置は、結晶成長のための液体貯留部から液体を排出させる系を有してもよい。そのような系は、結晶成長のための液体貯留部から液体を排出させる流路と、該流路から液体を受入れる液体貯留部とを含むことができる。そのような排出系を備える装置の例を図 26 に示す。図 26 に示す装置には、本発明の第 1 の液体貯留部に相当する溶液セル 210 a および 210 b、第 2 の液体貯留部に相当する反応セル 214 a、ならびに排液セル 218 a、218 b および 218 c が適当な位置に配置される。溶液セル 210 a および 210 b と反応セル 214 a とはそれぞれ流路 212 a および 212 b で連結される。反応セル 214 a と排液セル 218 a との間は流路 216 a で連結され、排液セル 218 a と 218 b の間ならびに 218 b と 218 c の間に流路 216 b および 216 c

が設けられる。溶液は矢印の方向に沿って流れるようになっている。反応セル 214a、排液セル 218a、218b、218c、および流路 216a、216b、216c は、ドーピングされた半導体基板等の価電子が制御された材料上に形成できる。溶液セル 210a、210b および流路 212a、212b はガラス等の汎用材料上に形成できる。なお、各セルの個数は図 26 に示される数に限定されるものではない。たとえば溶液セルは 3 以上とすることができ、反応セルは 2 以上とすることができる。一方、排液セルは 1 または 2 個としてもよい、4 個以上であってもよい。それぞれの反応セルの個数および配置に応じて流路を設けることができる。一方、排液セル、反応セルと排液セルとの間を連結する流路およびそれぞれの排液セル間を連結する流路は、必ずしも価電子が制御された材料上に形成する必要はなく、ガラス等の汎用材料上に形成してもよい。この場合、反応セルから排液セルへと溶液を流す必要があるので、反応セルが形成される基板の下にさらにガラス等の第 3 の基板を接合し、その第 3 の基板上に排液セルを形成すればよい。すなわち、溶液セルが形成される上部基板、反応セルが形成される中間基板、および排液セルが形成される下部基板の 3 段構造にし、上部基板および下部基板をガラス等の汎用材料とし、中間基板を半導体基板などの価電子が制御された材料とすればよい。装置の使用においては、たとえば、溶液セル 210a から結晶化を行なうべきタンパク質等の高分子化合物を含む母液を供給し、溶液セル 210b から緩衝溶液等の結晶化の条件を制御するための溶液を供給することができる。反応セル 214a は、これらの溶液を受入れ、結晶化に適した混合液を調製する。また、分子複合体を形成したいとき、反応セル 214a において複合体を形成すべき分子種を保持させ、溶液セル 210a に他の分子種を保持させ、溶液セル 210b に条件設定のための溶液を保持させてもよい。反応セル 214a に溶液セル 210a および 210b からそれぞれ溶液を供給して反応を起こさせることができる。

図 27 は、液体を一方方向に流すための流路の一例を示す。図に示す流路は、基板表面に形成された複数の V 溝から構成される。図 28 は、図 27 の L-L' 断面図であり、図 29(a) ~ 29(c) は、図 27 の X-X' 断面図、Y-Y' 断面図および Z-Z' 断面図である。流路 222 は、幅および深さの異なる V 溝部

222a、222bおよび222cから構成される。液体の流される方向は矢印によって示される。V溝部の幅および深さは上流から下流にいくに従って大きくなっている。また流路の幅は一定であるため、V溝の密度は上流から下流にいくに従って小さくなっている。このような構造により、図28に示すように流路222はV溝部222a、222bおよび222cによって階段状の形状とされている。このような構造を有する流路において、溶液は毛管現象によって矢印の方向に進む一方、溶液の逆流は妨げられる。溝は、V溝に限定されることなく、U字型の溝など、他の形状の溝を用いることもできる。溝は、基板自体に形成してもよいし、基板上に形成した膜を加工して作製してもよい。

- 10 図30に本発明に従う装置のさらなる具体例を示す。結晶成長用装置230には、第1の液体貯留部に相当する溶液セル230a、230bおよび230cが適当な間隔をあけて配置される。溶液セル230aおよび230bからそれぞれ供給される溶液を受入れるべく、第2の液体貯留部に相当する反応セル234-1、234-2、234-3、234-4...234-nが設けられている。一方、
- 15 溶液セル230aおよび230cからそれぞれ供給される溶液を受入れるべく、第2の液体貯留部に相当する反応セル234'-1、234'-2、234'-3、234'-4...234'-nが設けられている。溶液セル230aからは、流路232-1a~232-naならびに232'-1a~232'-naが各反応セルに延びている。溶液セル230bからは流路232-1b~232-nb
- 20 が各反応セルに延びており、溶液セル230cからは流路232'-1b~232'-nbが各反応セルに延びている。図に示すように、複数の反応セルにはそれぞれ長さおよび幅の異なる流路が連結されているため、各セルから各反応セルに流入する溶液の流速は異なる。したがって、各反応セルにおいてそれぞれ異なった濃度の混合液が得られる。さらに、装置には各反応セルに対応して排液セル
- 25 238-1~238-nならびに238'-1~238'-nが設けられる。これらの排液セルと各反応セルとは、それぞれ流路236-1~236-nならびに236'-1~236'-nにより連結される。反応セル、排液セルおよびこれらを連結する流路は、ドーピングされた半導体層上に形成することができ、一方、溶液セルおよび溶液セルと反応セルとを連結する流路は、ガラス等の汎用材

料上に形成できる。また装置 230 上には、加熱用電極 231 a および 231 b、  
ならびに測温用電極 235 a および 235 b が所定のパターンで形成される。加  
熱用電極 231 a および 231 b には、端子 233 a および 233 b を介して電  
力が供給される。測温用電極 235 a および 235 b は、基板 230 上に形成さ  
れた端子 237 a および 237 b にそれぞれ接続される。これらの電極および端  
子は、絶縁材料からなる基板上にたとえばクロム薄膜のパターンを形成すること  
により容易に得られる。加熱用電極 231 a および 231 b に通電することによ  
り、装置を加熱することができる。なお、前述のように排液セルおよび反応セル  
と排液セルとを連結する流路を、ガラス等の汎用材料上に形成してもよい。

- 10 本発明に従って、図 31 に示すような装置を提供することができる。結晶成長  
用装置 310 の表面には、第 1 の液体貯留部に相当する複数の溶液セル 313 a、  
313 b、313 c、313 d、313 e および 313 f、ならびに第 2 の溶液  
貯留部に相当する反応セル 314 a、314 b および 314 c が適当な位置に配  
置される。これらの溶液セルと反応セルとの間には、それぞれ流路 316 a、3  
15 16 b、316 c、316 d、316 e および 316 f が形成されている。これ  
らの流路は、溶液セルから反応セルへの溶液の移動を可能にする。溶液セルはガ  
ラス基板上に、反応セルは半導体基板上にそれぞれ形成することができる。反応  
セルをそれぞれ形成する基板には、貫通孔 317 a、317 b および 317 c が  
形成される。各反応セルにおいて形成される貫通孔の孔の大きさは異なっている。  
20 すなわち、貫通孔 317 c が最も大きく、貫通孔 317 a が最も小さい。さらに  
装置 310 の端部には、加熱用電極 319 および温度測定用電極 318 が設けら  
れる。図 31 に示す結晶成長用装置 310 は、図 32 に示すような装置 320 に  
組込まれる。ガラス基板等の上部基板 311 と貫通孔 317 を有する半導体基板  
等の下部基板 312 とからなる結晶成長用装置 310 は、容器 321 内に収容さ  
25 れる。容器 321 の底には、緩衝溶液等の溶液 324 が保持されており、容器 3  
21 の開口は、溶液の蒸発を防ぐために蓋 322 によって密閉される。支持脚 3  
23 によって水平に保持された上部基板 311 の溶液セルには、緩衝溶液等の結  
晶化の条件を調節するための溶液またはタンパク質等の結晶化すべき物質を含む  
溶液等が滴下される。溶液セルにそれぞれ保持される液滴 325 および 326 の

一部は、それぞれ流路を介して下部基板 3 1 2 上の反応セルに流れ込む。流れ込んだ溶液は、貫通孔 3 1 7 を介して下部基板 3 1 2 の下面に形成された液体貯留部に移行する。このようにして、液体貯留部には、重力の方向に垂れ下がった液滴 3 2 7 が保持される。溶液は、毛管現象により移動し、各反応セルに保持されていく。このような溶液の流通を行ないながら、反応セルにおいて所望の結晶化および／または反応を行なわせることができる。

上述した貫通孔は、異方性エッチング、ドライエッチング等によって形成することができる。貫通孔のサイズは、反応セル内での溶液の同期的な変動に影響を及ぼすため、重要である。通常、貫通孔の直径は、 $1.0\ \mu\text{m}$ ～ $5\ \text{mm}$ の範囲であることが好ましく、 $10\ \mu\text{m}$ ～ $1\ \text{mm}$ の範囲がさらに好ましい。反応セルには、任意の数の貫通孔を設けることができる。

図 3 3 (a) ～ 3 3 (c) は、貫通孔によって連結された上部反応セルと下部反応セルの動作原理を示す。図 3 3 (a) に示すように、溶液は流路を介して下部基板 3 1 2 の上面に形成された上部反応セルに流入するが、流入した液は貫通孔 3 1 7 によって下部反応セルに流れ落ち、液滴 3 2 7 として保持される。図 3 3 (b) に示すように、溶液をさらに上部反応セルに流入させていくと、重力の方向に垂れ下がった液滴 3 2 7 が下部反応セルに保持されたまま、上部反応セルにも溶液が少しずつ保持されるようになる。このとき溶液の流れの方向は主に矢印で示すとおりである。さらに溶液を上部反応セルに流入させると、図 3 3 (c) に示すような液の流通が行なわれるようになる。貫通孔 3 1 7 の径を適当なサイズにしておくと、図 3 3 (c) の A に示すように、1 つの貫通孔内で上方向および下方向の流れが同時に生じるようになる。また、図 3 3 (c) の B に示すように、複数の貫通孔間で、同調して逆向きの流れが生じるようになる。一見すると、反応セル内で溶液が平衡状態にあるように見えるが、実際には、このような非線形的な振動現象のため、反応セルに保持される溶液は、熱力学的平衡状態ではなく、溶液の流れがリズムを持って変動する生物学的な「生きた状態」にある。このような非平衡的環境により、結晶化の現象を含む化学的反応が永続的に進行することが期待できる。

図 3 4 (a) は、図 3 3 (a) ～ 3 3 (c) に示す現象を時間に対する溶液濃度

の変化として示したものである。図34(a)において、横軸は時間、縦軸は溶液濃度を表わしている。たとえば、溶液同士をビーカー等の中で単純に混合すると、ビーカーにおいてある物質の濃度は次第に減少し、やがて一定の値となり、その後は全く変化しない。そのような経過は、図34(a)において曲線Zで示される。一方、本発明の装置においては、図33(a)～33(c)に示すような流れが反応セル間で生じるため、物質濃度の経時的変化は図34(a)の曲線XまたはYに示すような経過をたどっていく。すなわち、濃度は、長時間にわたって周期的に変動するようになる。このような濃度変化は、生体内における種々の物質に起こる現象と類似する。図34(b)は、図34(a)に示す濃度変化の位相軌跡曲線を示している。図34(b)に示す曲線X'、Y'およびZ'は、図34(a)には示す曲線X、YおよびZにそれぞれ対応している。

図35および図36に示すように、第1の導電型または抵抗値を有するシリコン層352上に、所定のパターンで異なる導電型または抵抗値を有するシリコン層358のアイランドを設けてもよい。シリコン層352には、複数の貫通孔357が形成される。上部基板351とシリコン層352とが接合され、上部反応セル354aが形成される。シリコン層352の上部反応セル354aと反対側の面にも下部反応セル354bが形成される。シリコン層352上には流路536aおよび536bを介してそれぞれ結晶化に必要な液体が流れ込む。

本発明に用いられるN型およびP型シリコン結晶は、通常のLSIプロセスに用いられるシリコンウェハと同等の特性を有するものでよい。シリコン結晶の比抵抗は、 $0.0001 \sim 1000 \Omega \text{cm}$ 程度の範囲内であればよく、より好ましくは $0.001 \sim 100 \Omega \text{cm}$ の範囲内である。N型およびP型に価電子制御されたシリコンの調製方法として、種々のものが考えられ、どのような方式のものでもよいが、最も簡便で不純物濃度の制御が正確に行なえる方法として、イオン注入法が挙げられる。この場合、P型およびN型の価電子制御は、それぞれ周期律表第III族および第V族に属する元素のイオンをシリコン中に注入、アニールすることによって容易に行なうことができる。P型にするためのIII族元素としてB、Al、Ga、In、Tl等がある。特にBが一般的である。N型にするためのV族元素としてN、P、As、Sb、Bi等を挙げることができ、特



にP、As、Sbが一般的である。また、結晶の表面は、通常のウェハと同様、ミラーポリッシュされたものが、析出する結晶核の制御を行ない、余分な核の析出を抑制する上で好ましい。

また、反応セル内のシリコン層として、図20(a)~20(c)に示すような薄い半導体膜を用いる場合、化学気相成長法(CVD法)、プラズマCVD法などを用いて、ガラス基板等の電気絶縁性基板の表面に多結晶シリコンまたは非晶質シリコンを堆積させることができる。この場合の半導体層の比抵抗は、 $10 \sim 10^6 \Omega \text{cm}$ 程度の範囲であればよく、 $1 \sim 10000 \Omega \text{cm}$ の範囲がより好ましい。

シリコン等の半導体基板や半導体層の表面に不純物層を形成する場合、不純物層の厚みは、 $0.1 \sim 200 \mu\text{m}$ の範囲が好ましく、 $0.1 \sim 50 \mu\text{m}$ の範囲がより好ましい。これ以外の範囲では、作製が容易でなかったり、好ましい効果が得られなくおそれがある。

以上、価電子制御が容易な半導体結晶シリコンを用いた例を特に詳しく説明したが、本目的を達成するため、同様の機能を有し、結晶化のための溶液中で安定な他の材料を適宜用いることができる。たとえば、シリコン以外の単体または化合物半導体結晶を好ましく用いることができ、さらには、半導体以外の材料でたとえば電荷分布または誘電率の制御された無機化合物、有機化合物、高分子ポリマー、またはこれらの複合体を用いてもよい。

本発明による装置において、液体貯留部のサイズは、結晶化に用いられる母液の量に応じて決定することができる。一般に、液体貯留部の大きさは、 $0.1 \text{mm}$ 角 $\sim 10 \text{mm}$ 角の範囲とすることができる。また、液体貯留部の深さは $0.01 \sim 500 \mu\text{m}$ の範囲とすることができる。上述した範囲の面積および深さで基板をエッチングして、適当な液体貯留部を得ることができる。

本発明に従う装置において、流路は、基板自体のエッチング、または基板表面に形成された膜、たとえば酸化シリコン膜等の絶縁膜のエッチングによって形成することができる。流路を構成する1本の溝について、幅は $0.01 \sim 10000 \mu\text{m}$ の範囲が好ましく、長さは、 $0.1 \sim 100 \text{mm}$ の範囲が好ましく、深さは $0.01 \sim 200 \mu\text{m}$ の範囲が好ましい。複数本の溝によって流路を構成することもできる。この場合、複数本の溝の間隔は $0.01 \sim 10000 \mu\text{m}$ の範囲

とすることが好ましく、複数本の溝によって構成される流路全体の幅は $1\mu\text{m}\sim 10\text{mm}$ の範囲が好ましい。

- 本発明による装置の表面に、液体貯留部および／または流路を取囲むよう撥水性の層を形成してもよい。この層は、結晶化に必要な液滴を貯留部および／または流路に留めておき、液滴が周囲に流出するのを効果的に防止する。たとえば、表面の酸化膜が除去されたシリコン表面は、一般に酸、アルカリのみを含む水や純水に対して十分に撥水性であるが、緩衝溶液のような塩を含有する水溶液に対してその撥水性は低下する。したがって、緩衝溶液を結晶化に用いる場合、シリコン基板の周囲に撥水性の物質からなる層を形成することが好ましい。撥水性の層は、たとえば有機系樹脂によって形成することができる。有機レジスト材料およびポリイミド樹脂は、撥水性の層を形成するため好ましい材料である。ポリイミドからなる撥水性の層を形成する場合、たとえば感光性または非感光性のポリイミド樹脂をコーティングし、硬化させた後、所望のパターンとなるようエッチングまたは現像により不要な部分を除去することができる。撥水層の厚みは、機能の点から特に制限されないが、 $0.1\sim 100\mu\text{m}$ の範囲の厚みが比較的作製しやすい。また、撥水性を示しかつ溶液中で化学的に安定であれば、上述したもの以外の材料を用いてもよい。

- 本発明による装置には、温度勾配を形成し、結晶化を促進させるため、加熱用電極および測温用電極を設けることができる。これらの電極は、金属抵抗体の薄膜をパターンニングすることによって容易に得られる。この薄膜は、Cr、Ti、NiCr合金等をスパッタリング等によって基板に蒸着し、得られた薄膜をパターンニングすることによって得られる。電極によってシリコン基板を加熱する場合、加熱温度の範囲は、発熱体近傍で $30\sim 100^{\circ}\text{C}$ が好ましく、 $40\sim 80^{\circ}\text{C}$ がより好ましい。
- 本発明の装置において、価電子が制御された材料に電圧を印加できるよう、電極を設けてもよい。結晶化のための液体貯留部（第2の液体貯留部）に結晶成長を促進する目的で、バイアス電圧を印加し、この部分の表面電位を増大させることができる。

例

マッコウクジラ由来のミオグロビンをpH 7.2のリン酸緩衝溶液に20 mg / mlの濃度で溶解し、母液を得た。以下に示すようにして、2種類の結晶成長用装置を調整した。

5 (1) 結晶成長用装置-1

約20  $\Omega$  cmの比抵抗のN型シリコン基板表面に、ホウ素元素のイオン注入およびアニールによって低抵抗のP型シリコン層（比抵抗：約0.01  $\Omega$  cm、不純物層の深さ約1  $\mu$  m）を全面的に形成した。その後、その表面に熱酸化によって酸化シリコン層を200 nmの厚みで形成した。LSIの製造プロセスに通常用いられるフォトリソグラフィ法およびエッチング技術を用いて、酸化シリコン層の表面をエッチングし、100  $\mu$  m角のパターンを200  $\mu$  mの間隔で全面的に形成した。次いで、酸化シリコン層のパターンをマスクとして、アルカリによる異方性エッチングを行ない、約1.5  $\mu$  mの深さまでシリコンを除去した。次いで、酸化シリコン層を除去した。以上の工程により、N型シリコン基板表面に100  $\mu$  m角のP型シリコン領域が200  $\mu$  mの間隔で配列された構造物を得た。次いで、この構造物を5 mm角の薄片に切断し、結晶成長用装置のための下部基板として用いた。

次に、結晶成長用装置のための上部基板を作製するため、25 mm角で厚みが1 mmのパイレックスガラス基板を準備した。図14(a)~14(f)に示すような工程に従って、パターン化された保護膜の形成およびエッチングを行ない、貫通孔、窪みおよび溝を形成した。形成された2つの窪みのサイズは、縦の長さが5 mm、横の長さが15 mm、深さが100  $\mu$  mであった。溝の幅は100  $\mu$  m、溝の長さは5 mmであった。またパイレックスガラス基板の中央部には、4 mm角の貫通孔を形成した。次いで、得られた上部基板と下部基板とを、陽極接合によって組合せた。

得られた装置の構造を図37(a)~37(c)に示す。パイレックスガラスからなる上部基板371には5 mm×15 mmのサイズの液体貯留部373aおよび373b、および幅100  $\mu$  m長さ5 mmの流路376aおよび376bが形成される。上部基板371の中央部に形成された貫通孔を塞ぐように下部基板37

2が上部基板371に接合されている。下部基板372の表面には、 $100\mu\text{m}$ 角のP型シリコン領域が $200\mu\text{m}$ の間隔で多数配列されている。このP型シリコン領域が配列された表面は、結晶成長のための液体保持部として機能する。

## (2) 結晶成長用装置-2

- 5 図20(a)~20(c)に示すような結晶成長用装置を作製した。結晶成長用装置-1と同様の方法を用いて図23(a)~23(f)に示すような工程に従い、窪み、溝および貫通孔を有するパイレックスガラス製の上部基板を作製した。次に、パイレックスガラス上にプラズマCVD法により低抵抗のN型非晶質シリコン(比抵抗: $10^4\Omega\text{cm}$ )を $2\mu\text{m}$ の厚みで堆積し、次いでその上に低抵抗のP型非晶質シリコン(比抵抗: $10^3\Omega\text{cm}$ )を $1\mu\text{m}$ の厚みで堆積した。図21(a)~21(d)に示すような工程に従ってエッチングを行ない、N型非晶質シリコン層上に、 $100\mu\text{m}$ 角で $1.5\mu\text{m}$ 高さのアイランドが $200\mu\text{m}$ の間隔で配列したパターンを形成した。各アイランドの上部は、P型非晶質シリコン層である。以上の工程により、パイレックスガラス基板上にシリコン層が形成された下部基板を得た。次いで、図24(a)および24(b)に示すような工程に従い、上部基板と下部基板とを陽極接合によって組合せ、図20(a)~20(c)に示すような装置を得た。

- 20 結晶成長用装置-1および2を容器内に入れそれぞれ水平に保持した。それぞれの装置の中央部にある液体保持部に上述したミオグロビン溶液をそれぞれ $200\mu\text{m}$ 滴下した。一方、その周囲の上部基板に用いられた液体貯留部の一方にpH7.2の緩衝溶液を約1ml滴下し、他方の液体貯留部に0.2Mの塩化ナトリウム水溶液(沈澱剤)を約1ml滴下した。その後、結晶成長用装置を収容する容器の底にpH7.2の緩衝溶液を約5ml滴下し、容器に蓋をした。次いで、容器を $10^\circ\text{C}$ の冷暗所内に静置した。図38は、冷暗所内に静置された容器の様子を示している。上部基板371および下部基板372からなる結晶成長用装置は容器381内で支持部材383によって水平に保持されている。容器381は蓋382によって密閉される。容器の底には緩衝溶液384が収容されている。上部基板371の2つの液体貯留部には緩衝溶液385および沈澱剤386がそれぞれ保持され、中央の液体貯留部にはミオグロビン溶液387が保持される。

結晶成長用装置－２も、同様に容器内に保持される。

結晶化に必要な液体を保持した結晶成長用装置－１および２をそれぞれ冷暗所に４８時間静置した後、中央の液体貯留部から試料を取出し、顕微鏡によってミ  
オグロビンの結晶化の状態を観察した。結晶成長用装置－１では、約０．９mm  
5 サイズの大型の表面が平滑な単結晶が３個得られた。双晶や微結晶は全く生成し  
なかった。結晶成長用装置－２においては、約０．５mmサイズの中型の表面が  
平滑な単結晶が６個得られた。双晶や微結晶は全く生成しなかった。以上の結果  
より、本発明に従う結晶成長用装置によって、微量な試料についても大型で品質  
のよい単結晶が得られることがわかった。

10

#### 産業上の利用可能性

以上説明したように、本発明によれば試行錯誤を繰返しながら進められてきた  
従来の結晶化プロセスの欠点を解決することができる。特に本発明によれば、重  
力による溶液の対流の影響を抑制し、結晶化の初期過程における核の形成を安定  
15 して行なわせることができる。また本発明によれば、微結晶の大量生成を抑制ま  
たは制御することができ、X線構造解析を可能にし得る大型の結晶を得ることが  
できる。さらに本発明によれば、１つの装置において微量な溶液について多数の  
異なる結晶化のための条件を調製することができる。これにより、特定の分子に  
ついて結晶化のための最適な条件を作り出すことができる。さらに本発明によれ  
20 ば、溶液の対流の影響を抑制し、結晶の成長を安定して行なわせることができる。  
本発明は、試料が微量であっても、大型の結晶を成長させるためより適切な条件  
を短時間のうちに作り出すことが可能である。

本発明は、種々の高分子化合物、特に高分子電解質を結晶化するために用いる  
ことができる。本発明は特に、酵素および膜タンパク質等のタンパク質、ポリペ  
25 プチド、ペプチド、ポリサッカライド、核酸、ならびにこれらの複合体および誘  
導体等を結晶化させるため好ましく適用される。本発明は、生体高分子の結晶化  
のため好ましく適用される。また、本発明は、生体内または生体外においてタン  
パク質、酵素、核酸を初めとする種々の生体高分子の補足、生成、合成等を行な  
うためのマイクロ・リアクタ装置に応用することができる。本発明の装置は、上

述した技術によって、微細化および集積化が可能である。本発明は、価電子が制御された材料と汎用材料とを組合せて形状、構成等について自由度が高くかつ安価な結晶成長用装置を提供する。

- 5 本発明は、製薬産業や食品産業等において、有用な物質、特にタンパク質、核酸等の生体高分子の研究、開発および製造に適用される。本発明によれば、X線構造解析を可能にする結晶性の良好な結晶を成長させることができる。結晶解析の結果、その分子構造および活性のメカニズムについて得られる情報は、薬剤の設計および製造に活かされる。また本発明は、関心のある分子の精製または結晶化に適用される。さらに、本発明は、タンパク質等の生体高分子を用いた電子デバイス
- 10 パイスの作製に応用が期待される。また本発明の装置は、生体高分子等を選択的に吸着および固定化することが可能なため、バイオセンサ、バイオセンサによる各種生体組織および生体物質の測定装置への応用等が可能である。

## 請求の範囲

1. 溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させるための装置であって、  
結晶成長のために用いられるべき液体を保持するための第1の液体貯留部と、  
5 前記第1の液体貯留部から液体を他の場所に移動させるための流路と、  
前記流路によって移動させられる液体を受入れるための第2の液体貯留部とを  
備え、  
前記第1の液体貯留部、または前記第1の液体貯留部と前記流路の両方が、第  
1の材料上に形成され、  
10 前記第2の液体貯留部が、前記高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部  
分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御された第2の材料上に  
形成され、かつ  
前記第1の材料と前記第2の材料とは異なるものである、結晶成長用装置。
2. 前記第1の液体貯留部および前記流路は、前記第1の材料からなる第1の  
15 基板上に形成され、  
前記第2の液体貯留部は、前記第2の材料からなる層を有する第2の基板上に  
形成され、かつ  
前記第1の液体貯留部に保持される液体が前記流路を介して前記第2の液体貯  
留部に移動できるよう、前記第1の基板と前記第2の基板とが組合わされている、  
20 請求の範囲第1項に記載の結晶成長用装置。
3. 前記第1の基板は、前記第1の液体貯留部に保持される液体が前記流路を  
介して流れ込むことができる孔を有し、かつ  
前記孔の底部に前記第2の基板が設けられて前記孔および前記第2の基板によ  
り前記第2の液体貯留部が形成されている、請求の範囲第2項に記載の結晶成長  
25 用装置。
4. 前記第2の材料の表面のうち、特定の領域で前記高分子化合物の結晶核の  
形成および結晶の成長が促進されかつその他の領域で結晶核の形成が抑制される  
よう、前記価電子が制御されている、請求の範囲第1～3項のいずれか1項に記  
載の結晶成長用装置。

5. 前記第2の材料は、不純物が添加された半導体であり、かつ前記価電子の制御は、前記不純物の濃度および／または種類の制御によりなされている、請求の範囲第1～3項のいずれか1項に記載の結晶成長用装置。
6. 前記第2の液体貯留部は、不純物が添加された半導体基板上、または電絶縁性材料上に形成されかつ不純物が添加された半導体層上に形成されていることを特徴とする、請求の範囲第1～3項のいずれか1項に記載の結晶成長用装置。
7. 前記第1の材料は電気絶縁性材料であることを特徴とする、請求の範囲第1～3項のいずれか1項に記載の結晶成長用装置。
8. 前記第2の材料は、不純物が添加された半導体であり、かつ前記価電子の制御は、前記不純物の濃度および／または種類の制御によりなされている、請求の範囲第4項に記載の結晶成長用装置。
9. 前記第2の液体貯留部は、不純物が添加された半導体基板上、または電絶縁性材料上に形成されかつ不純物が添加された半導体層上に形成されていることを特徴とする、請求の範囲第4項に記載の結晶成長用装置。
10. 10. 前記第1の材料は電気絶縁性材料であることを特徴とする、請求の範囲第4項に記載の結晶成長用装置。



FIG. 1(a)

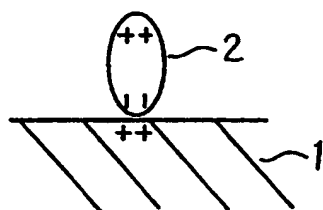


FIG. 1(b)

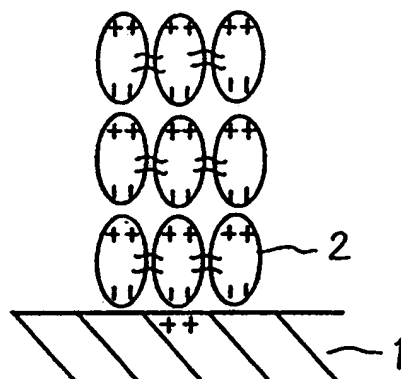


FIG. 2(a)

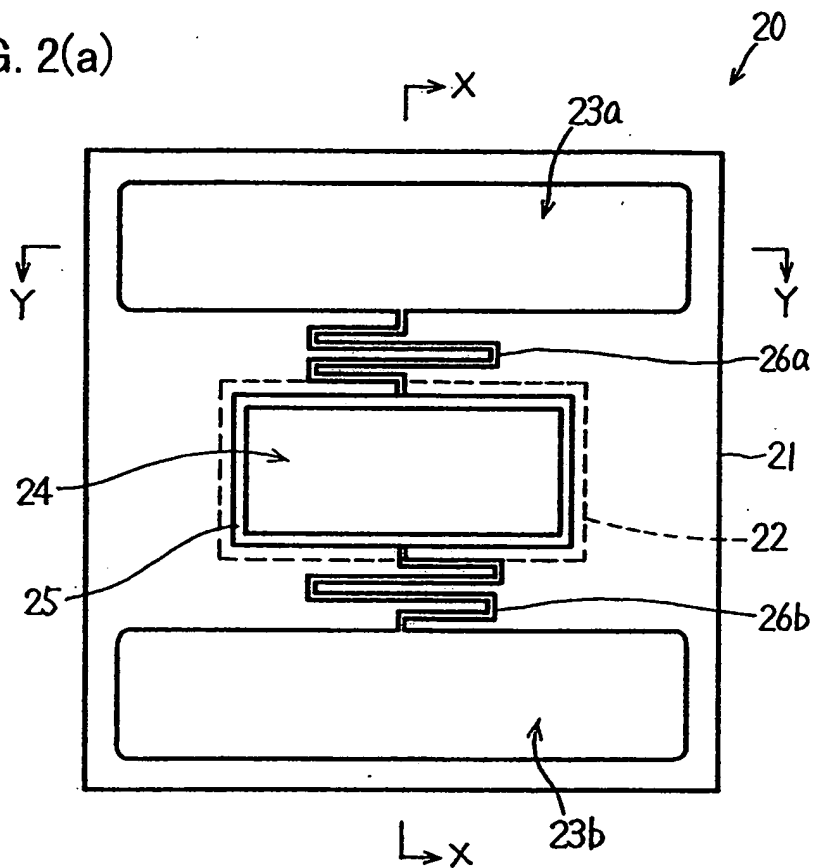


FIG. 2(b)

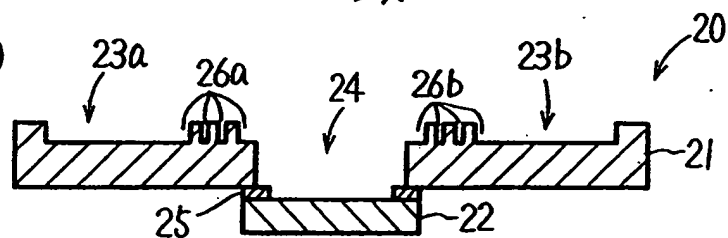


FIG. 2(c)

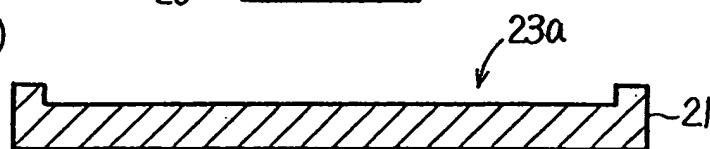


FIG. 3

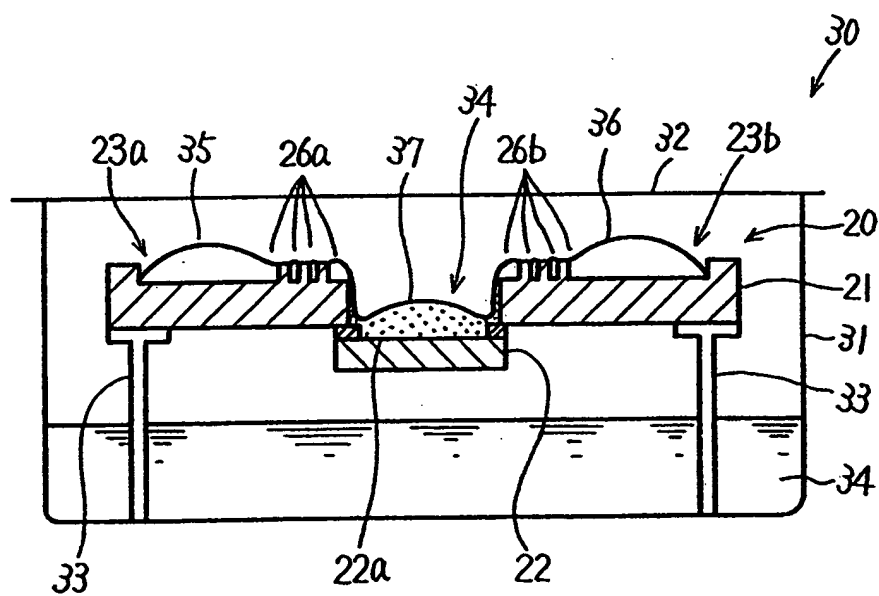


FIG. 4(a)

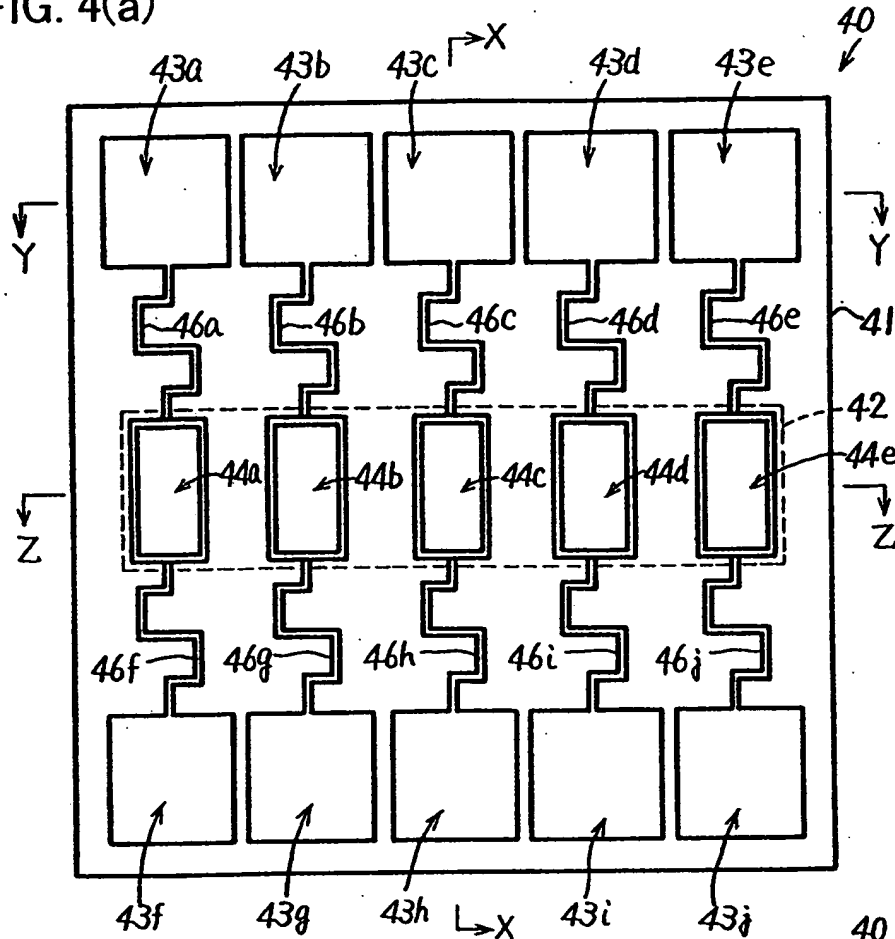


FIG. 4(b)

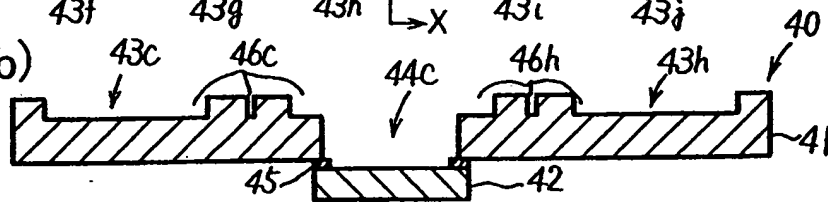


FIG. 4(c)

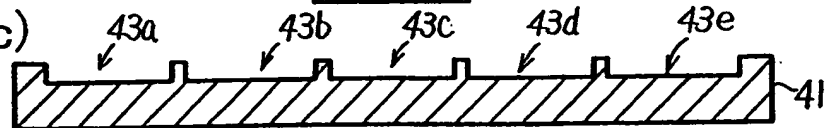


FIG. 4(d)

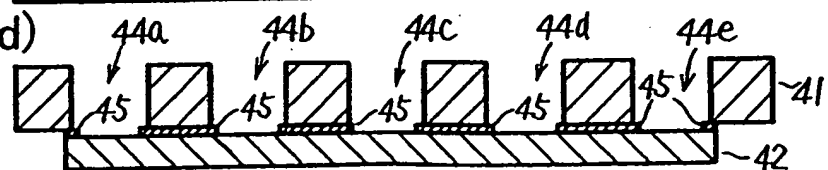


FIG. 5(a)

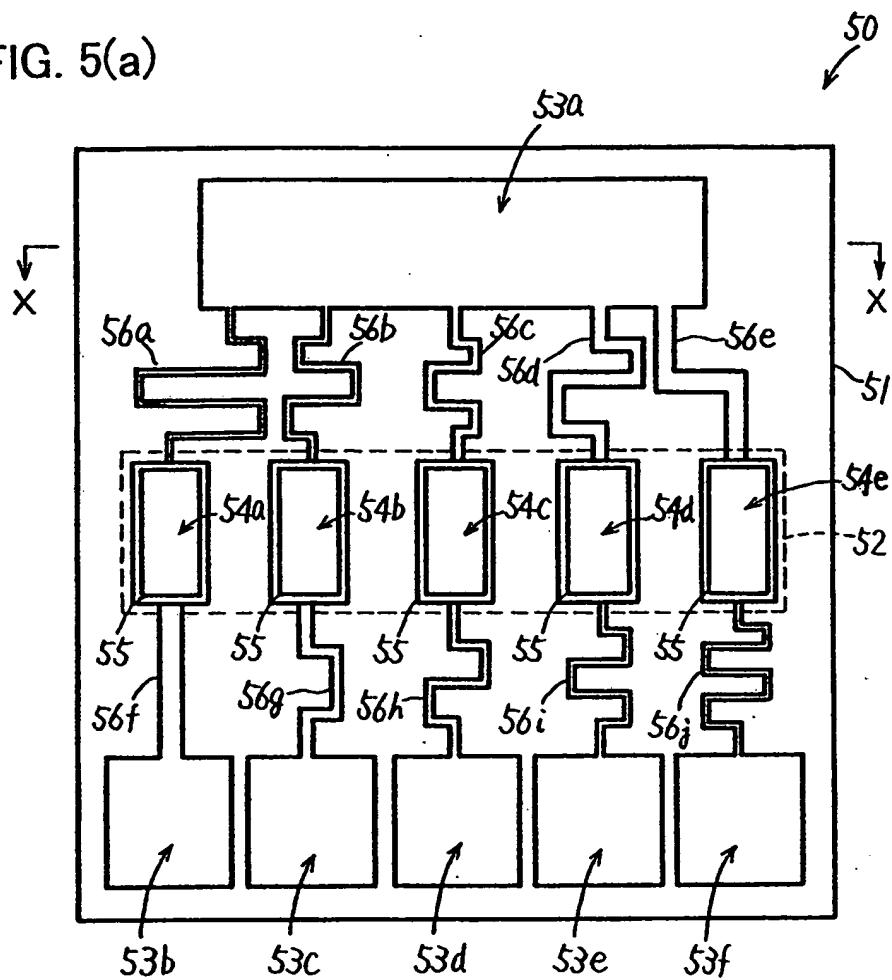


FIG. 5(b)

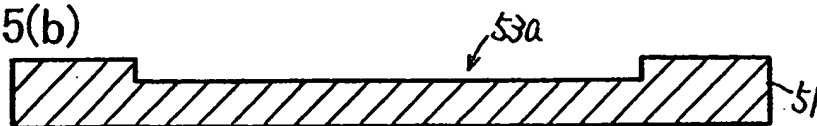


FIG. 6

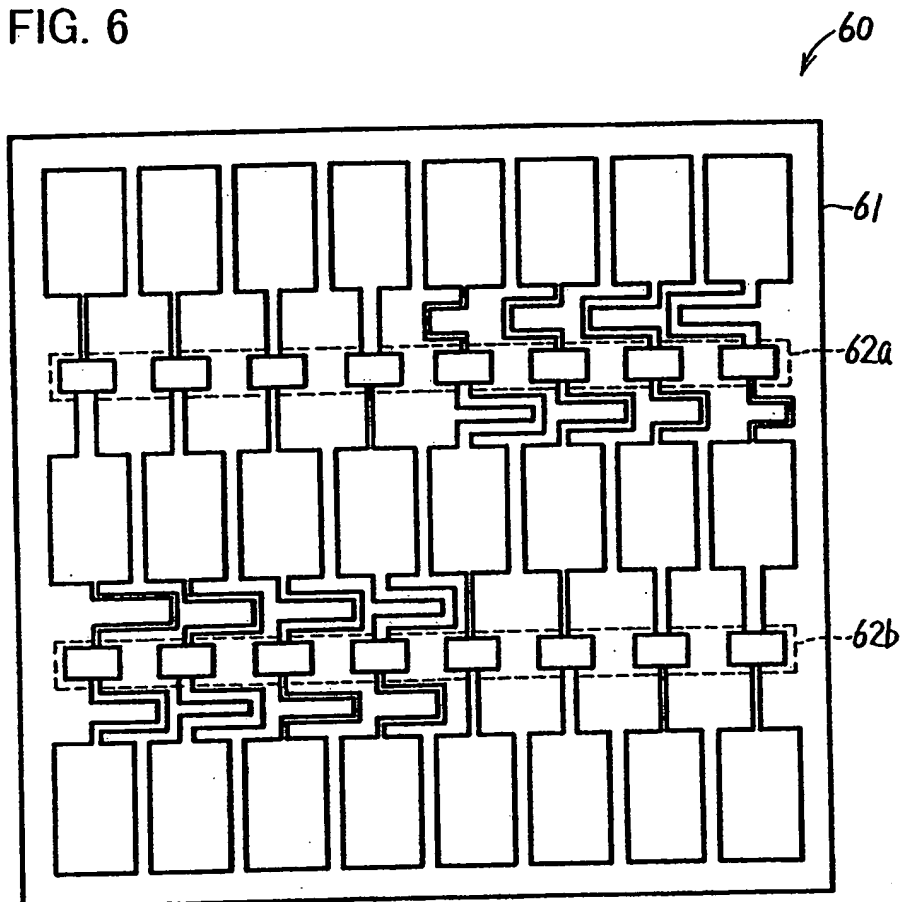


FIG. 7

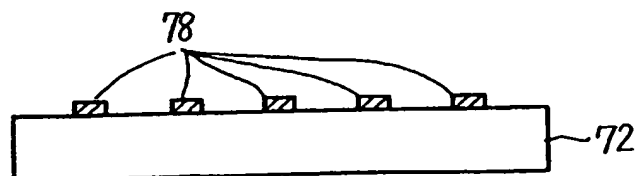


FIG. 8

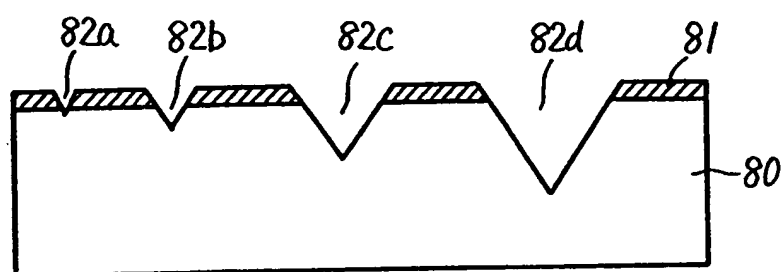


FIG. 9

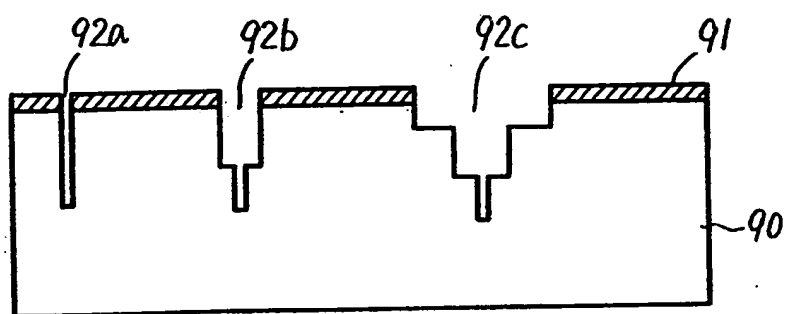


FIG. 10

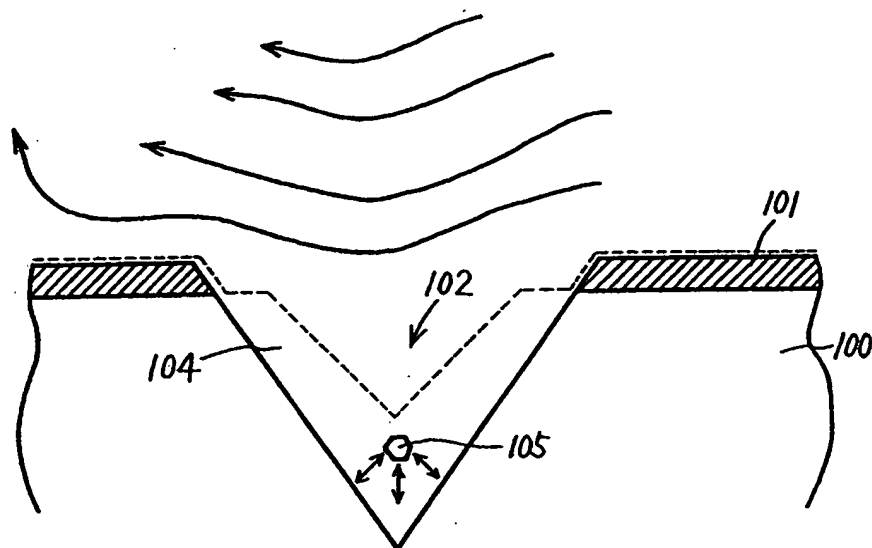


FIG. 11

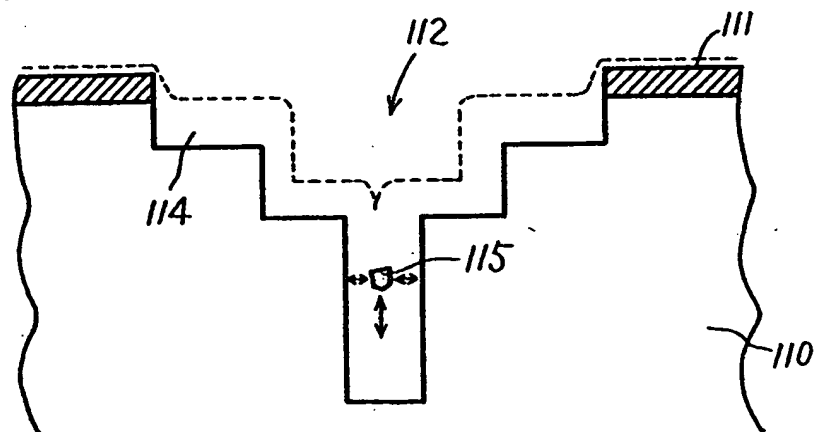




FIG. 12

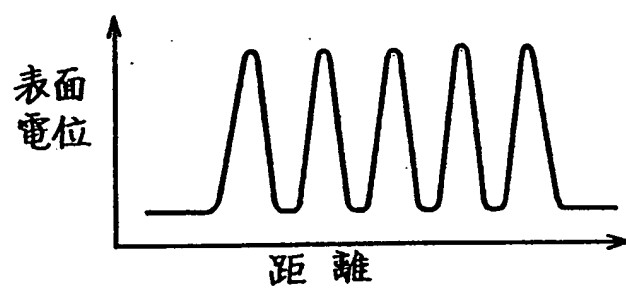


FIG 13

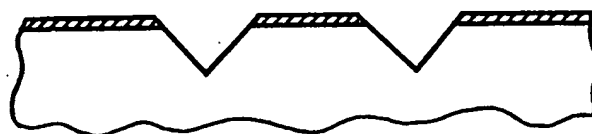
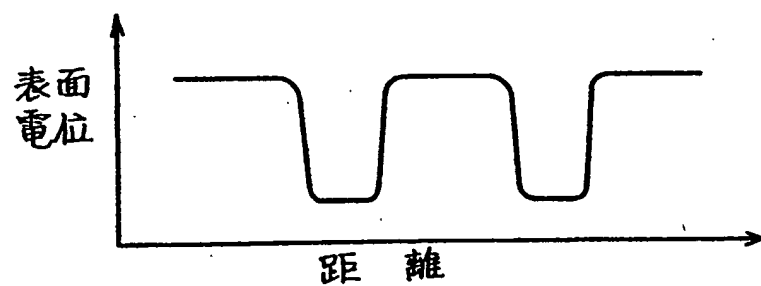


FIG. 14(a)

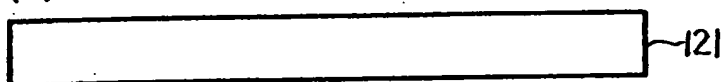


FIG. 14(b)

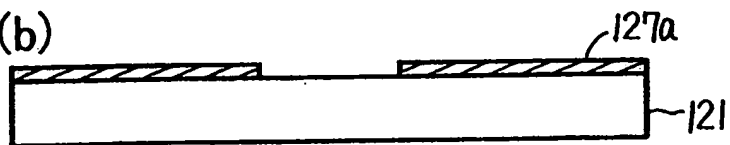


FIG. 14(c)

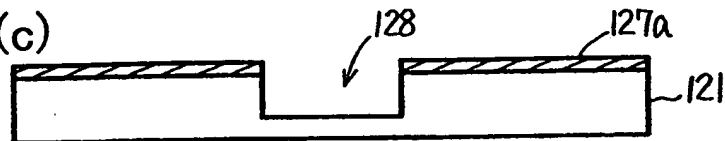


FIG. 14(d)

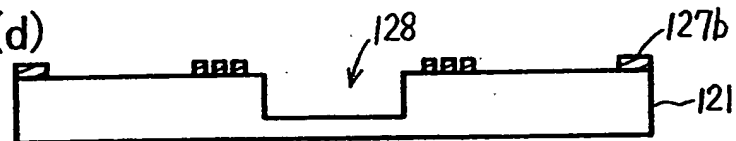


FIG. 14(e)

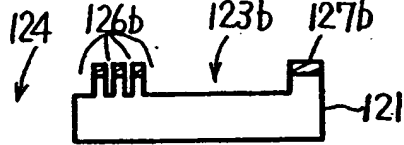
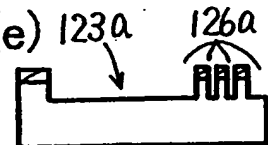


FIG. 14(f)

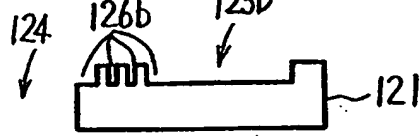
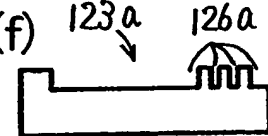


FIG. 15(a)

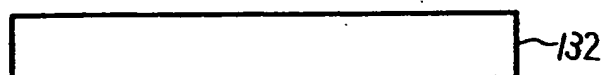


FIG. 15(b)

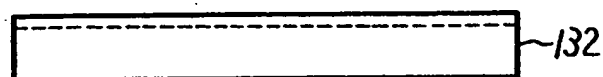


FIG. 15(c)

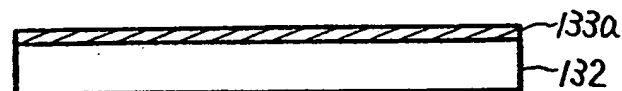


FIG. 15(d)

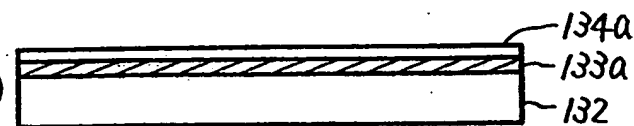


FIG. 15(e)

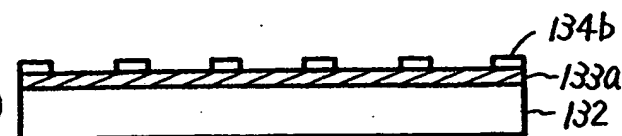
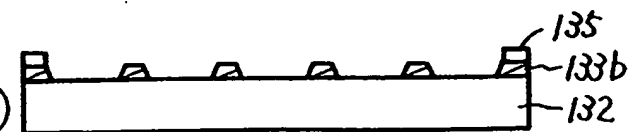
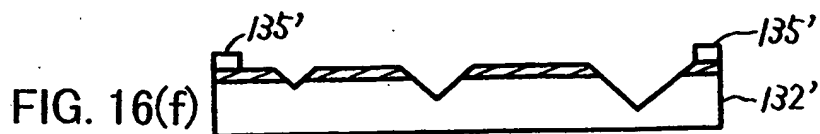
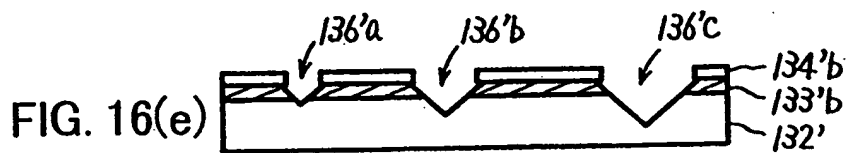
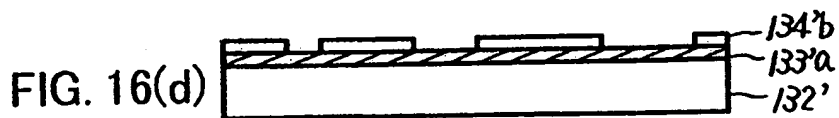
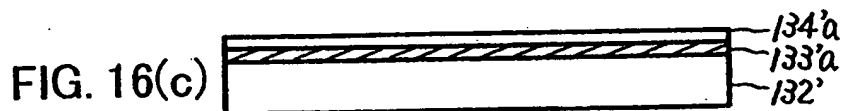


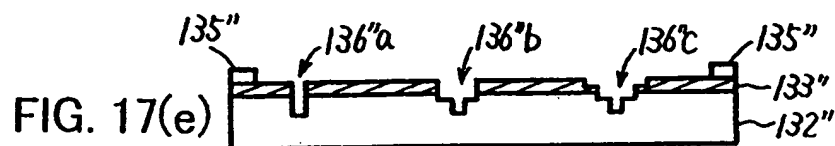
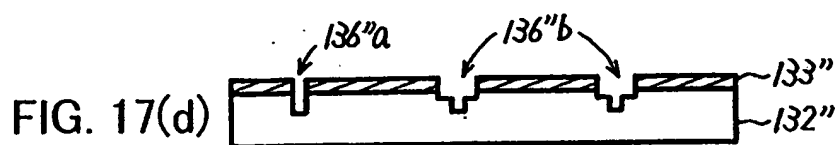
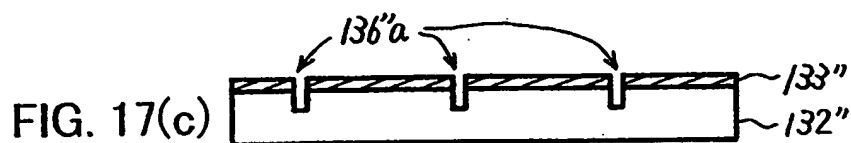
FIG. 15(f)



FIG. 15(g)







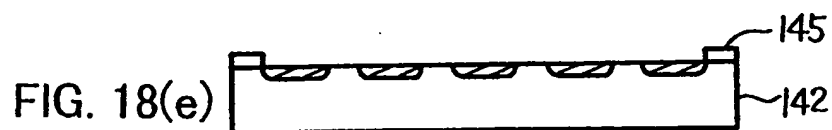
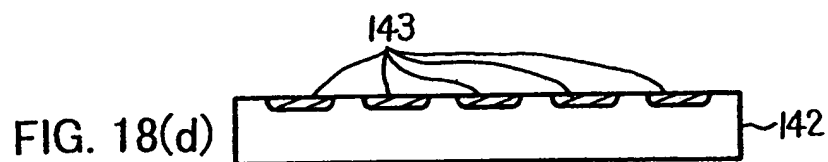
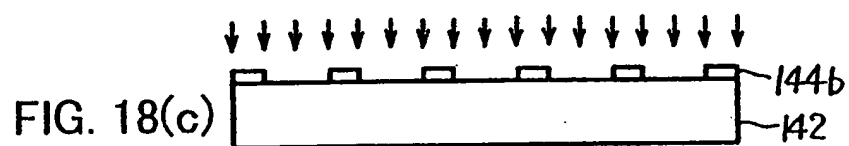
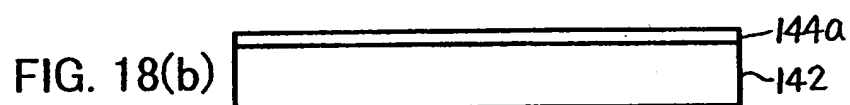


FIG. 19(a)

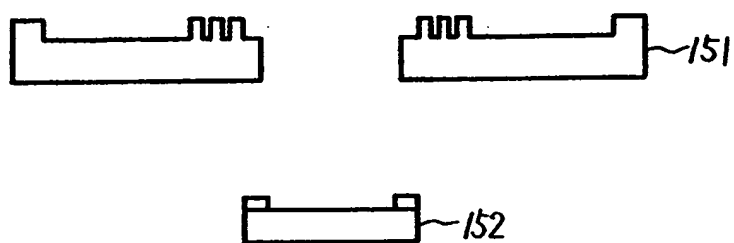


FIG. 19(b)

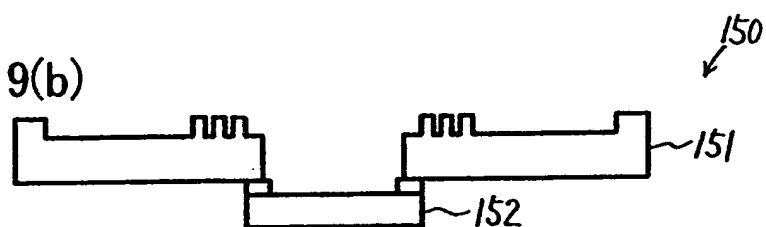


FIG. 20(a)

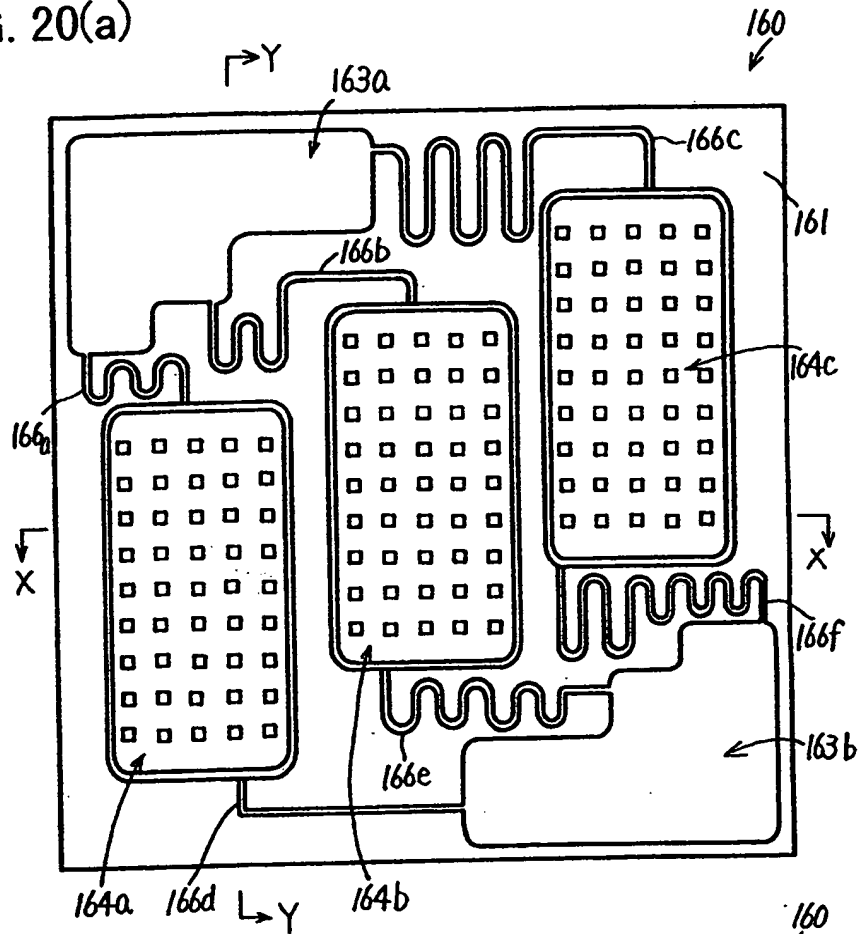


FIG. 20(b)

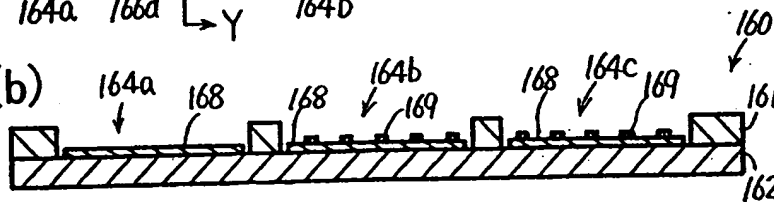


FIG. 20(c)

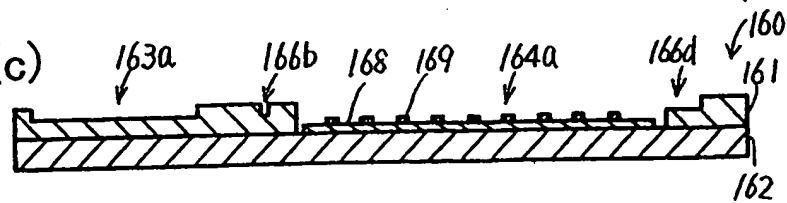




FIG. 21(a)



FIG. 21(b)



FIG. 21(c)



FIG. 21(d)



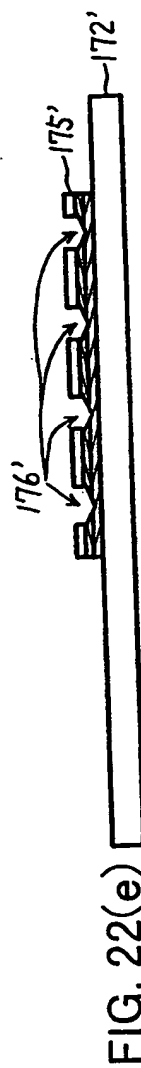


FIG. 23(a)



FIG. 23(b)

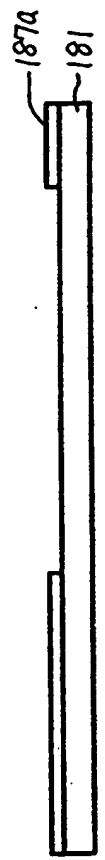


FIG. 23(c)



FIG. 23(d)



FIG. 23(e)



FIG. 23(f)





FIG. 24(a)

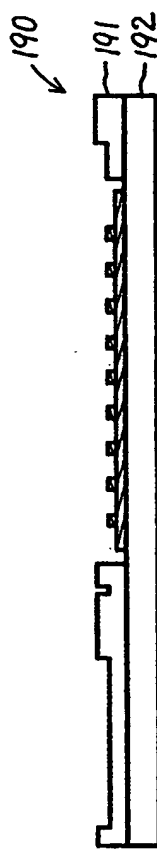


FIG. 24(b)

FIG. 25

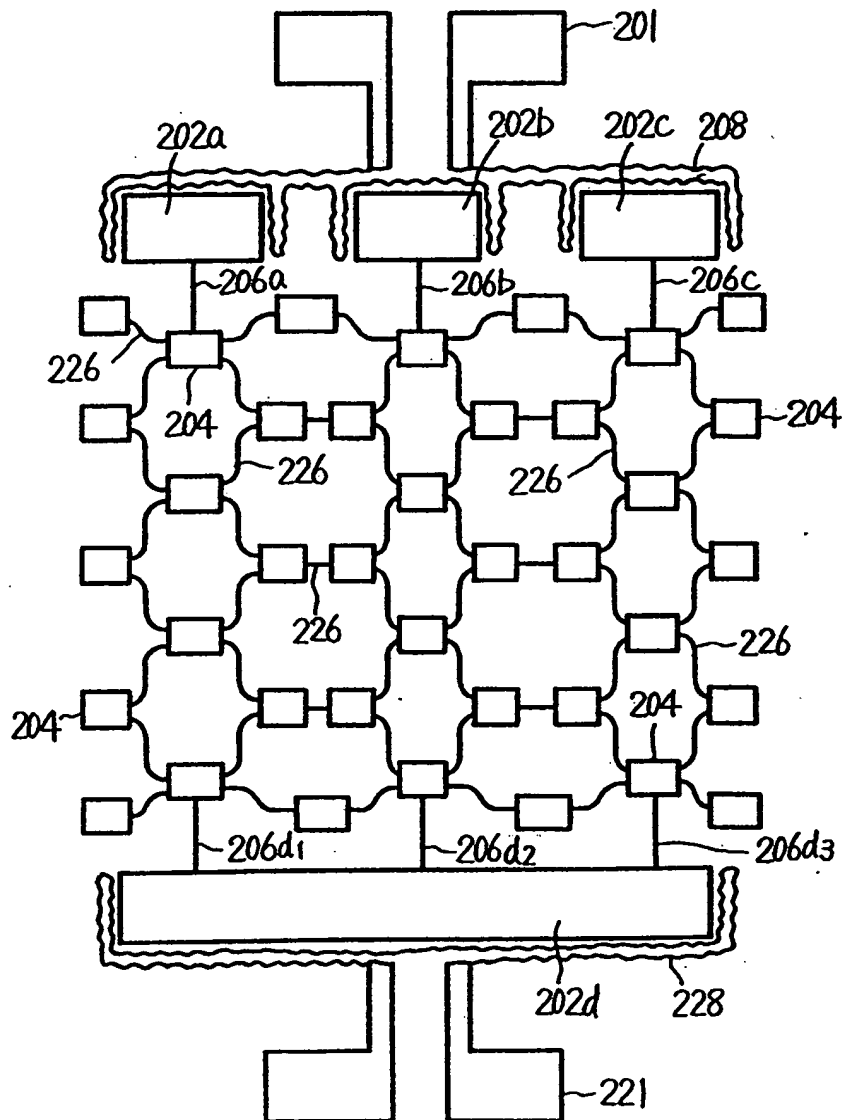


FIG. 26

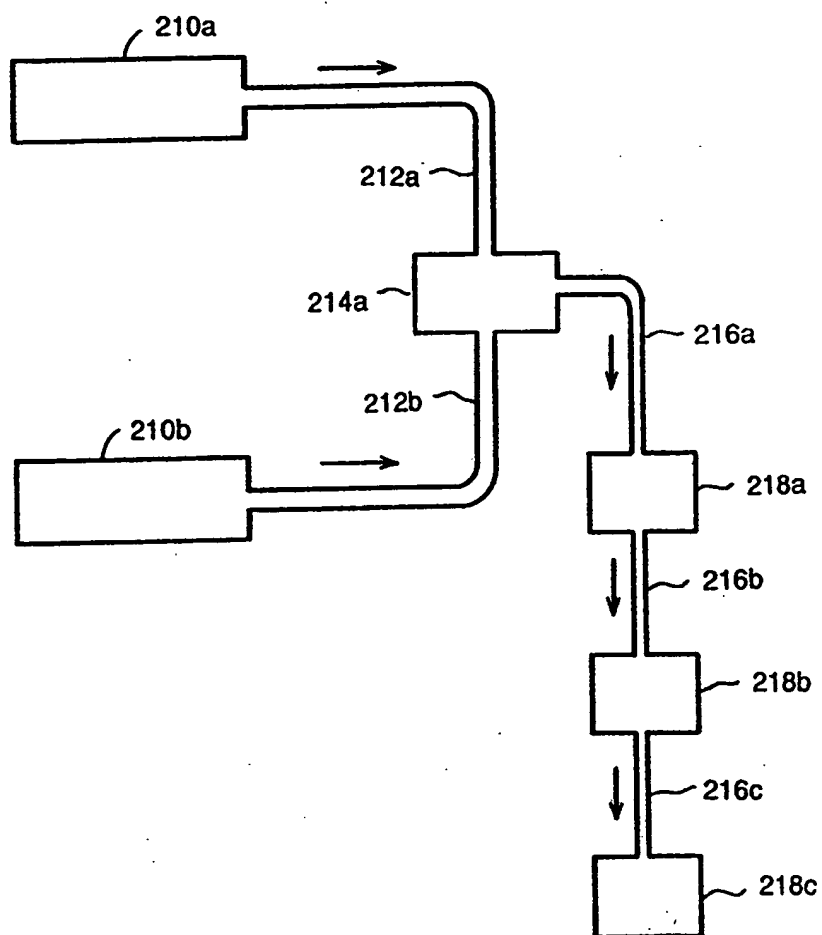


FIG. 27

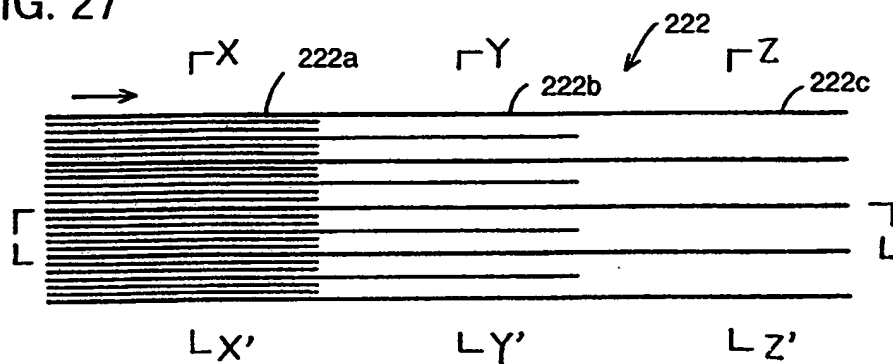


FIG. 28

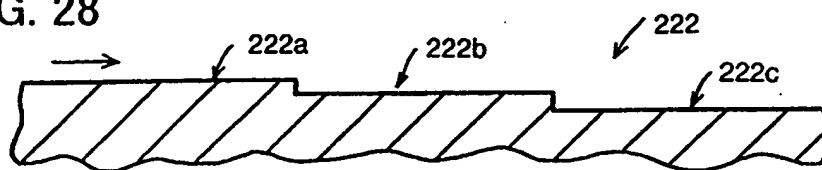


FIG. 29(a)

X-X\'

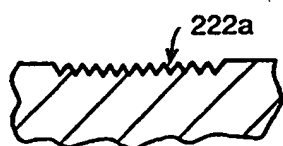


FIG. 29(b)

Y-Y\'

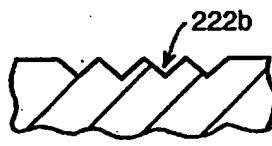


FIG. 29(c)

Z-Z\'

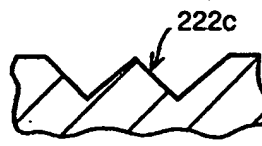


FIG. 30

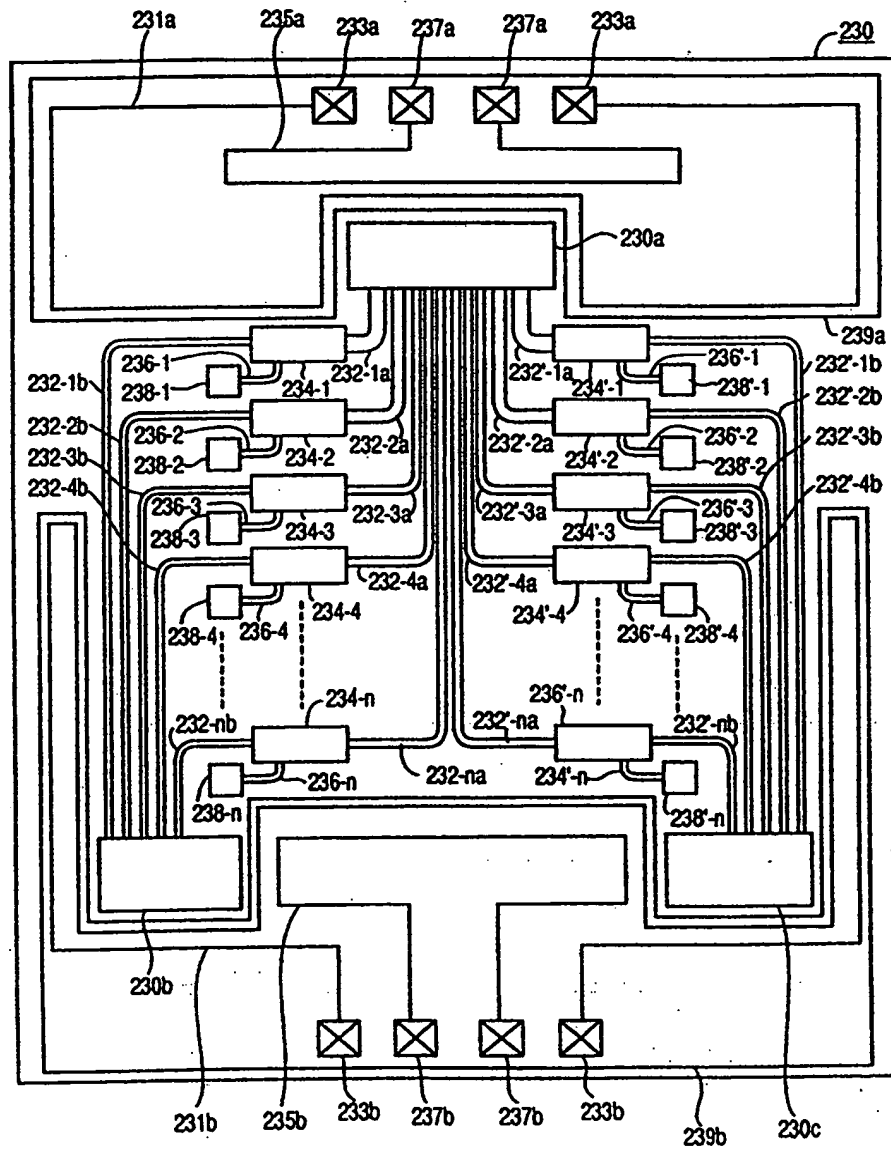




FIG. 31

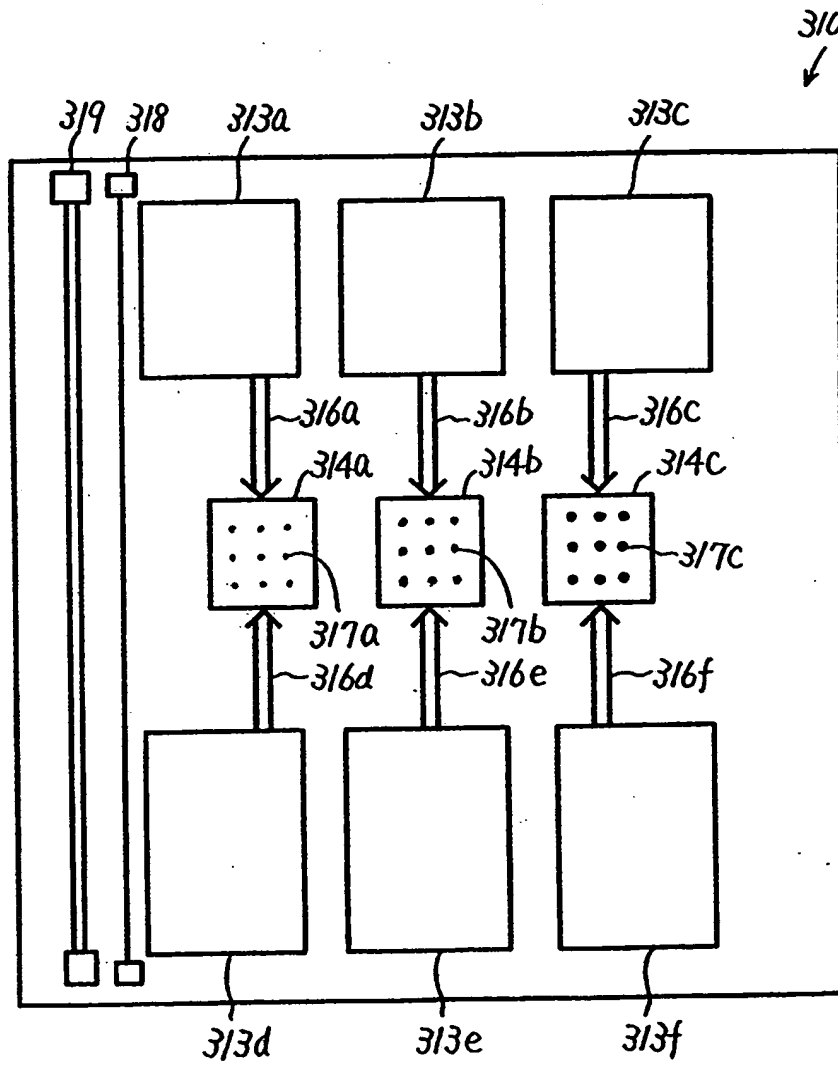
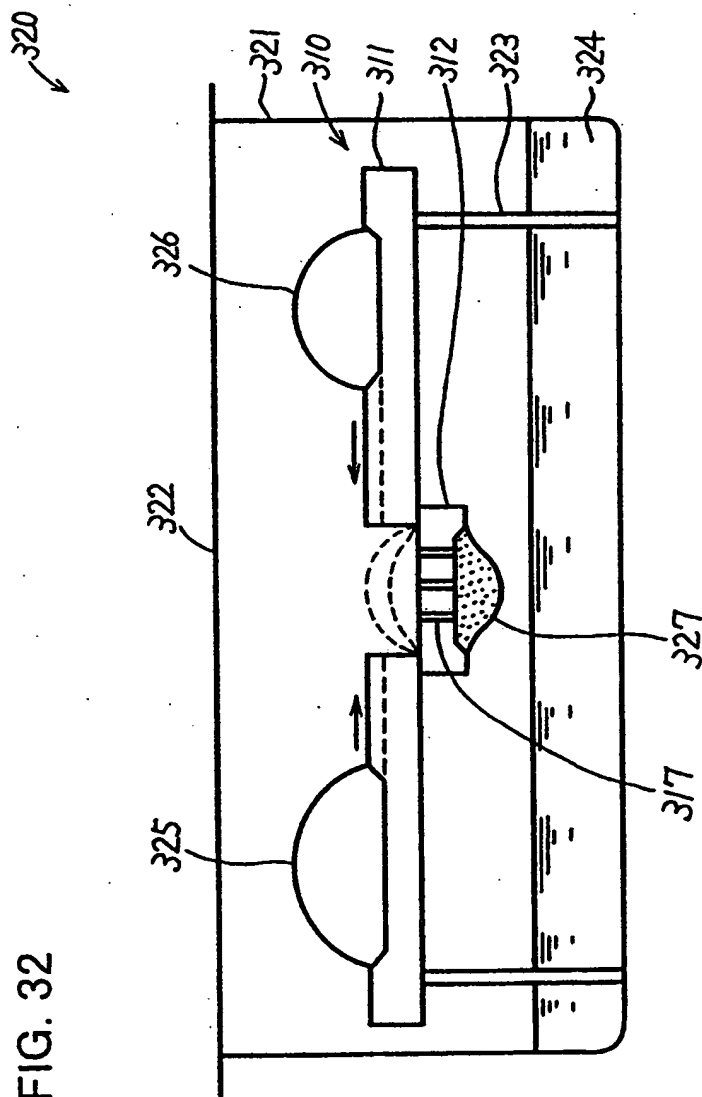


FIG. 32



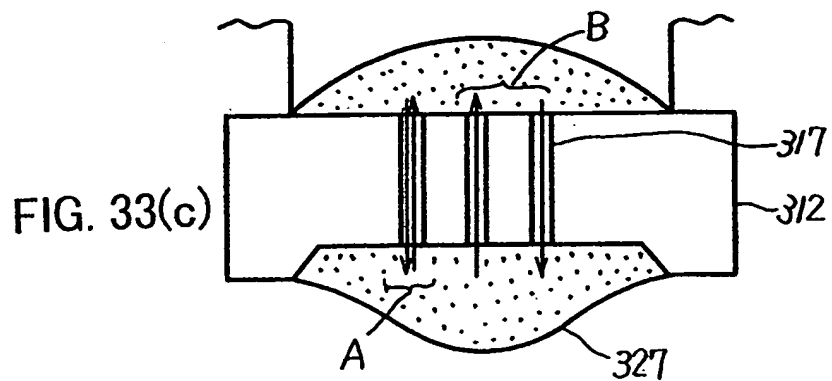
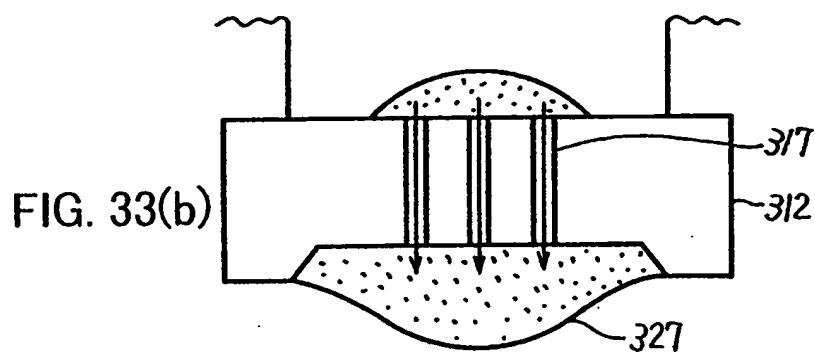
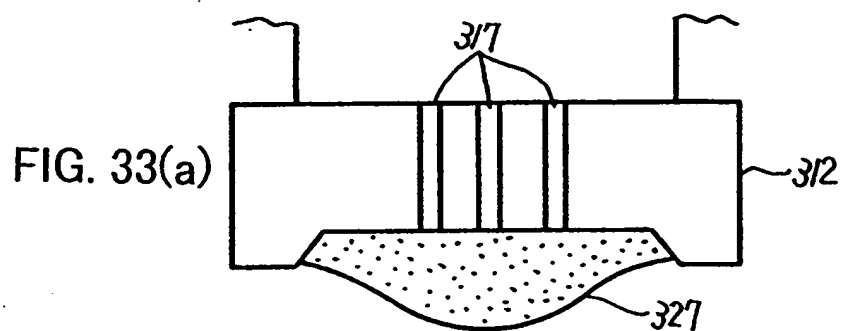


FIG. 34(a)

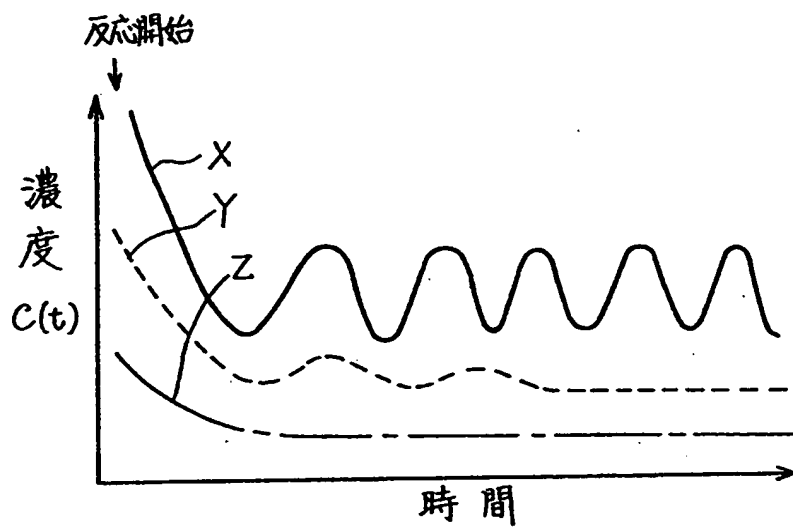


FIG. 34(b)

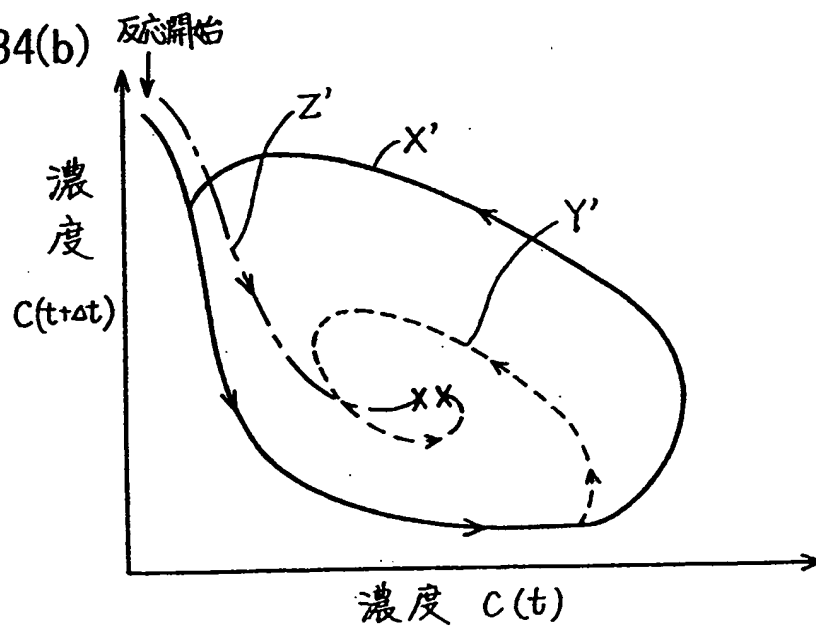


FIG. 35

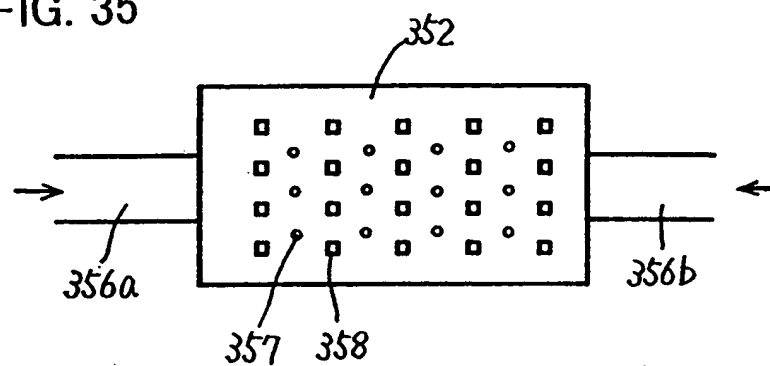


FIG. 36

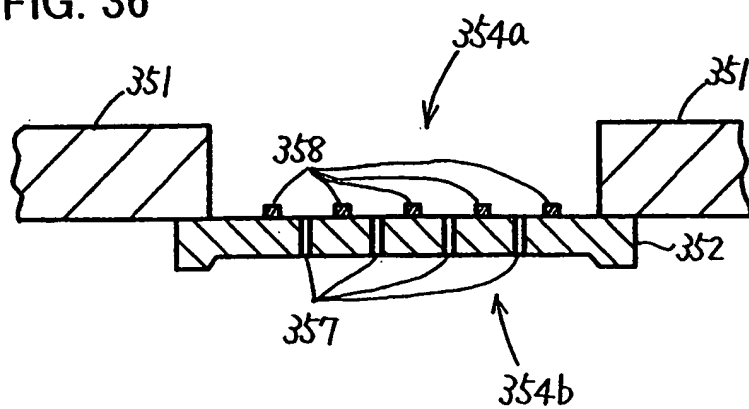


FIG. 37(a)

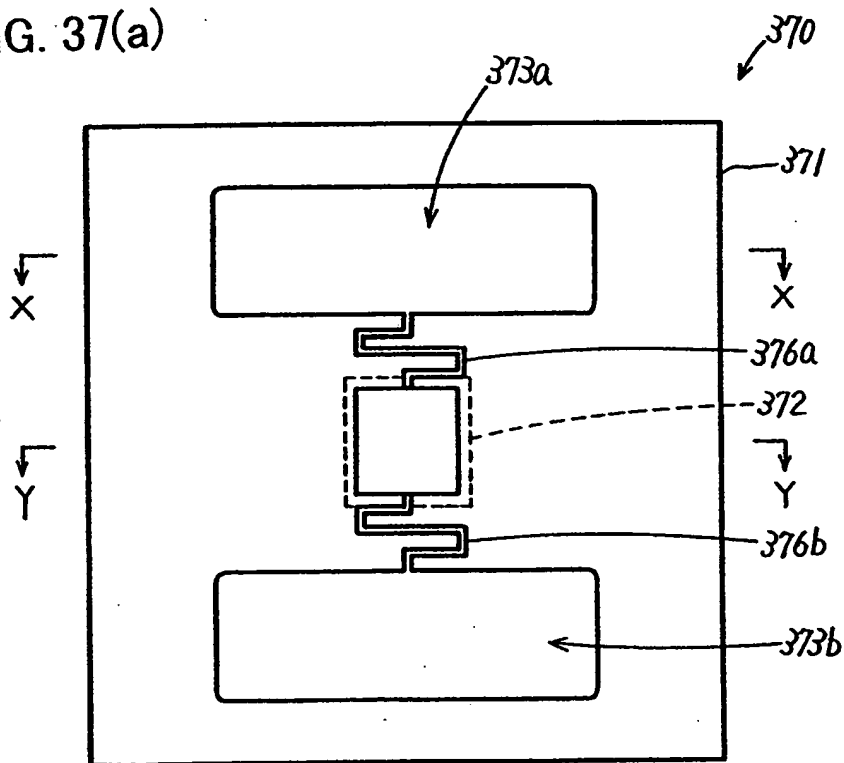


FIG. 37(b)

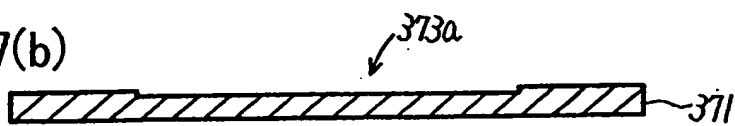


FIG. 37(c)



FIG. 38

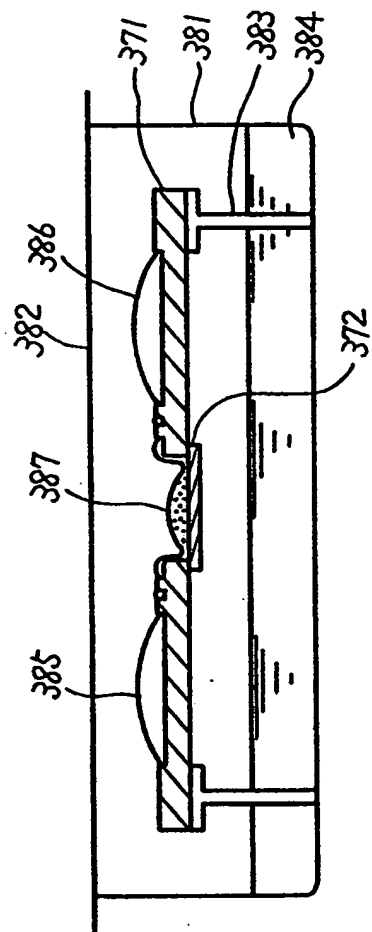


FIG. 39

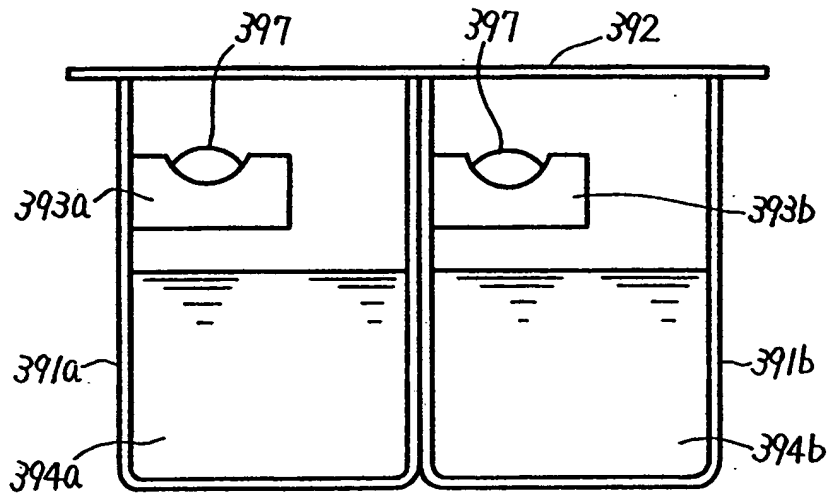


FIG. 40(a)

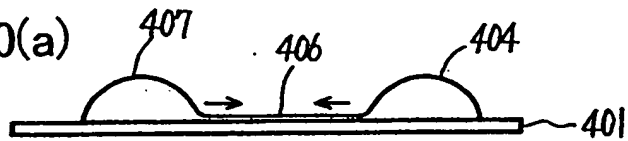
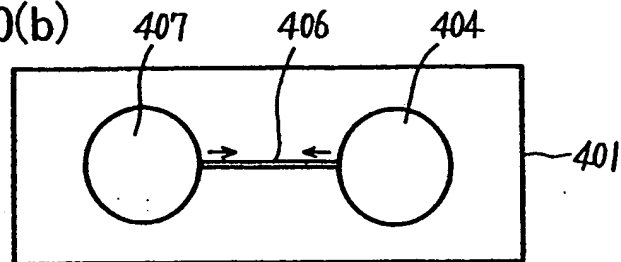


FIG. 40(b)





# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/JP98/04573

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> Int.Cl <sup>6</sup> C30B29/58, C30B7/00, B01D9/02, C07K1/00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl <sup>6</sup> C30B29/58, C30B7/00, B01D9/02, C07K1/00 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1926-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-1998 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-1998 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-1998 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 8-294601, A (Sumitomo Metal Industries, Ltd.), 12 November, 1996 (12. 11. 96) & EP, 821987, A & WO, 9626781, A	1-10
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 November, 1998 (17. 11. 98)		Date of mailing of the international search report 24 November, 1998 (24. 11. 98)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 98/04573

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C 30 B 29/58, C 30 B 7/00, B 01 D 9/02, C 07 K 1/00

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C 30 B 29/58, C 30 B 7/00, B 01 D 9/02, C 07 K 1/00

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1996年  
 日本国公開実用新案公報 1971-1998年  
 日本国登録実用新案公報 1994-1998年  
 日本国実用新案登録公報 1996-1998年

## 国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 8-294601, A (住友金属工業株式会社), 12.11月. 1996(12.11.96) & EP, 821987, A & WO, 9626781, A	1-10

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

17. 11. 98

国際調査報告の発送日

24.11.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

五十 様 殿

電話番号 03-3581-1101 内線 3416

4G

9440

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**